

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen
Kinderspital
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. C. Klein

Einfluss der Expression von Fettsäuretransportproteinen auf den plazentaren LC-PUFA- Transfer bei Patientinnen mit Diabetes mellitus

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

von

Sarah-Christin Mavi

aus
Lippstadt

2014

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Berthold Koletzko

Mitberichterstatter: PD Dr. med. Andreas Lechner

PD Dr. med. Martin Füchtenbusch

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Fabienne Lara Faber

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR,
FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 24.07.2014

ERKLÄRUNG

Diese Dissertation wurde im Sinne der Promotionsordnung für die Medizinische Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München vom 01. Juni 1983 von Professor Dr. med. Berthold Koletzko betreut.



März 2009 – Dezember 2013

Arbeitsgruppe Prof. Dr. med. Berthold Koletzko
Fakultät für Medizin
Ludwig-Maximilians-Universität München

EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation
mit dem Thema

„Einfluss der Expression von Fettsäuretransportproteinen auf den
plazentaren LC-PUFA-Transfer bei Patientinnen mit Diabetes mellitus“
selbstständig verfasst, mich außer der angegeben keiner weiteren
Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz
oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und
nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln
nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in
gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung
eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 20.01.2014
Sarah-Christin Mavi

In Dankbarkeit gewidmet

meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Überblick.....	1
1.2	Diabetes mellitus	2
1.2.1	Diabetes mellitus Typ 1.....	3
1.2.2	Diabetes mellitus Typ 2	4
1.2.3	Gestationsdiabetes	4
1.3	Stoffwechsel in der Schwangerschaft	8
1.3.1	Essentielle Fettsäuren und LC-PUFA	8
1.3.2	Bedeutung von LC-PUFA in der Schwangerschaft	10
1.3.3	LC-PUFA-Transfer über die Plazenta	12
1.3.4	Fettsäuretransportproteine.....	14
1.3.5	Fettsäuredesaturasen (FADS).....	17
1.3.6	Lipoproteinlipase und endotheliale Lipase (hLPL und hEL).....	18
1.3.7	Plazentarer Fettsäuretransfer in komplizierten Schwangerschaften.....	19
1.4	Effekte von LC-PUFA auf die neuronale Entwicklung des Kindes.....	19
1.5	Fragestellung und Zielsetzung	20
2	Studienaufbau, Material und Methoden	22
2.1	Studienaufbau.....	22
2.1.1	Studienteilnehmer.....	22
2.1.2	¹³ C-Fettsäuren	22
2.1.3	Klinische Durchführung	23
2.1.4	Ethische Aspekte	24
2.2	Material.....	25
2.2.1	Geräte	25
2.2.2	Chemikalien.....	26
2.2.3	Materialien für die PCR	26
2.3	Fettsäure-Analyse	27
2.3.1	Aufarbeitung der Proben	27
2.3.2	Fettsäure-Zusammensetzung im Blutplasma	27
2.3.3	Fettsäure-Zusammensetzung der Erythrozyten.....	30
2.3.4	Fettsäure-Zusammensetzung im Plazentagewebe	31
2.4	Tracer-Messungen	33
2.5	Molekulargenetik.....	33
2.5.1	Gewinnung der Plazentaprobe	33
2.5.2	mRNA-Extraktion aus Plazentagewebe	33
2.5.3	Photometrische Kontrolle der RNA-Extraktion	34
2.5.4	cDNA-Synthese.....	34
2.5.5	Real-time Polymerase-Kettenreaktion	35

2.6	Immunhistochemische Färbungen von FATP-1 und FATP-4	38
2.7	Statistische Analyse	39
3	Ergebnisse	40
3.1	Demographische Daten der Probandinnen	40
3.2	mRNA-Expression der Fettsäuretransportproteine in Plazentagewebe	41
3.2.1	Die FATP-Familie mit Acyl-CoA-Synthetase-Aktivität (Fatty Acid Transport Proteins)	42
3.2.2	Fettsäurebindungsprotein (FABPpm)	45
3.2.3	Fettsäuretranslokase (FAT/CD36)	47
3.2.4	Adipozyten-Fettsäurebindungsprotein (aFABP)	48
3.2.5	Fettsäuredesaturasen (FADS)	49
3.2.6	Lipoproteinlipase und endotheliale Lipase (hLPL und hEL)	50
3.3	Fettsäure-Zusammensetzung	52
3.3.1	Fettsäure-Zusammensetzung im Blutplasma	52
3.3.2	Fettsäure-Zusammensetzung der Plazenta	69
3.3.3	Fettsäure-Zusammensetzung der Erythrozyten	72
3.4	Tracer-Messungen	76
3.4.1	Tracer-Konzentrationen in Phospholipiden	76
3.4.2	Tracer-Konzentrationen in Triglyzeriden	81
3.4.3	Tracer-Konzentrationen in Cholesterinestern	86
3.4.4	Tracer-Konzentrationen in freien Fettsäuren	90
3.4.5	Totale ¹³ C-Fettsäure-Gehalte im Verhältnis venösen Nabelschnurblutes zu mütterlichem Blutplasma	94
3.4.6	Totale ¹³ C-Fettsäure-Gehalte im Verhältnis Plazentagewebe zu mütterlichem Blutplasma	97
3.5	Immunolokalisation von FATP-1 und FATP-4	99
4	Diskussion	102
4.1	Plazentarer Fettsäuretransfer	102
4.2	Fettsäuren in mütterlicher Zirkulation, Nabelschnurblut und Plazenta	106
4.3	Fettsäureverteilungen in den verschiedenen Kompartimenten	108
5	Zusammenfassung	113
5.1	Grundlagen und Fragestellung	113
5.2	Methoden	113
5.3	Ergebnisse	114
5.4	Schlussfolgerung	114

6	Danksagung	116
7	Verzeichnisse	118
7.1	Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme	118
7.2	Abbildungsverzeichnis.....	120
7.3	Tabellenverzeichnis	122
7.4	Literaturverzeichnis.....	124

1 Einleitung

1.1 Überblick

In den letzten Jahren ist das wissenschaftliche Interesse an der Bedeutung der langkettigen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LC-PUFA) für die schwangere Frau und den Säugling stetig gewachsen. In verschiedensten Studien haben sich Hinweise verdichtet, dass eine optimale Versorgung mit LC-PUFA während der Schwangerschaft nicht nur für die werdende Mutter und den Schwangerschaftsverlauf von Bedeutung sind, sondern ebenfalls die Entwicklung des Fetus positiv beeinflusst. Die LC-PUFA Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) befinden sich in hoher Konzentration im reifenden Nervensystem des Fetus und wirken wesentlich auf das Wachstum der Nervenzellen ein. [1] LC-PUFA können im menschlichen Körper aus essenziellen Fettsäuren (FS) durch Desaturase-Enzyme synthetisiert oder durch die Nahrung direkt aufgenommen werden. Die Plazenta hat allerdings nur eine sehr geringe Desaturase-Aktivität und der Fetus ist nicht in der Lage, LC-PUFA in ausreichender Menge zu synthetisieren. [2, 3] Aus diesem Grund ist das sich entwickelnde Kind abhängig vom Transport von LC-PUFA vom mütterlichen Kreislauf über die Plazenta in die kindliche Zirkulation. Bei LC-PUFA-Mangel während der Schwangerschaft und Stillzeit haben Kleinkinder eine verlangsamte motorische, verbale und visuell-kognitive Entwicklung verglichen mit Kleinkindern ohne LC-PUFA-Mangel. [4-6] In Vorstudien kristallisierte sich heraus, dass Schwangere mit Diabetes mellitus ein Missverhältnis im LC-PUFA-Transfer über die Plazenta gegenüber gesunden Schwangeren zu haben scheinen. LC-PUFA stellen sich bei Schwangeren mit DM in der Plazenta akkumuliert dar. Auch sieht es danach aus, dass der Transport zum Fetus über die Nabelschnurgefäße eingeschränkt sei, sodass weniger LC-PUFA den Fetus erreichen. [7, 8] Selektiv arbeitende Fettsäuretransportproteine in der Plazenta sollen für den LC-PUFA-Transport verantwortlich sein. [9] Da die molekularen Transportmechanismen noch nicht vollständig aufgeklärt sind, soll in dieser Arbeit der Einfluss der Expression von Fettsäuretransportproteinen auf den plazentaren LC-PUFA-Transfer bei Schwangeren mit DM näher untersucht und Unterschiede in der LC-PUFA-Verteilung zwischen gesunden Schwangeren und Schwangeren mit diabetogener Stoffwechsellage aufgezeigt werden.

1.2 Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus (altgriechisch *diabainein*, „hindurchfließen“ und lateinisch *mellitus* „honigsüß“) ist schon seit der griechischen Antike bekannt. Aretaeus von Kappadokien prägte Ende des ersten Jahrhunderts nach Christus den Fachterminus, konnte jedoch außer einer schlechten Prognose für Erkrankte keine wirksame Therapie anbieten. [10] Erst durch die von Paul Langerhans 1863 entdeckten Langerhans-Inseln im Pankreas als Produktionsstätte des Insulins und die Entschlüsselung der Wirkung des Insulins als Stoffwechsellhormon durch Frederick Banting und Charles Best im Jahre 1921, für die sie den Nobelpreis der Medizin erhielten, konnte der Diabetes mellitus als behandelbare Stoffwechselerkrankung weitestgehend verstanden und Therapieansätze entwickelt werden. [11, 12] Nach den Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft lässt sich die Zuckerkrankheit in 2 Haupttypen klassifizieren: Der Diabetes mellitus Typ 1 ist eine immunologisch bedingte Form und führt durch Selbstzerstörung der β -Zellinseln im Pankreas zum absoluten Insulinmangel. Der Typ-2-Diabetes, metabolisch bedingt und oftmals mit einem metabolischen Syndrom korreliert, erstreckt sich von einer vorwiegenden Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis zu einem vorwiegend sekretorischen Defekt mit Insulinresistenz. Die Komplikationen und Spätschäden der Diabeteserkrankung sind jedoch bei beiden Typen weitestgehend die selben. Die durch die dauerhaft bestehende Blutzuckererhöhung bedingte nichtenzymatische Glykosylierung der Gefäßbasalmembranen führt langfristig zu Spätschäden in Form von Mikro- und Makroangiopathien. Die Makroangiopathie kann zu Frühateriosklerose mit daraus resultierender Koronaren Herzkrankheit führen, eine periphere arterielle Verschlusskrankheit auslösen und ischämische Hirninfarkte verursachen. Abhängig von der Dauer der Diabeteserkrankung kann sich eine Mikroangiopathie in Form einer diabetischen Retinopathie, einer Neuropathie und einer Glomerulosklerose M. Kimmelstiel-Wilson ausprägen. Spätfolgen können Erblindung, Nierenversagen und damit verbundene Dialysepflichtigkeit sein. [13, 14]

Epidemiologisch ist der Diabetes mellitus weltweit als Volkskrankheit einzustufen. Im Jahr 2000 waren weltweit mindestens 171 Millionen Menschen an Diabetes erkrankt. Dies nimmt einen Anteil von 2,8 % der Weltpopulation ein. [15] In Prognosen für das Jahr 2030 wird mit einem Anteil von 4,4 % aller Menschen, die an Diabetes erkrankt sein werden, weltweit gerechnet. [15]

Die Diabetes-Erkrankung lässt sich klinisch in zwei unterschiedliche Haupttypen klassifizieren. Der Diabetes mellitus Typ I ist gekennzeichnet durch die autoimmune Zerstörung der β -Zellen der Langerhans-Inseln des Pankreas, die zum absoluten Insulinmangel führt. Die Patienten sind in der Vergangenheit häufig bei Erstmanifestation der Erkrankung jüngeren Alters gewesen. Heutzutage ist der *adult-onset* Diabetes mellitus Typ 1 zwei bis drei mal häufiger als der *childhood-onset* Diabetes mellitus Typ 1. [16] Die anfänglichen, auf den Diabetes hinweisenden Symptome sind Exsikkose, ausgeprägtes Durstgefühl, Gewichtsverlust, Kälteintoleranz, Pollakisurie und Abgeschlagenheit. Therapeutisch ist die lebenslange Insulintherapie unabdingbar. Im Gegensatz zum Typ I Diabetes ist der Typ II Diabetes mellitus gekennzeichnet durch eine Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel. Im Verlauf der Erkrankung kann die Insulinkapazität des Pankreas erschöpfen und es kann zu einem absoluten Insulinmangel kommen. Typ II Diabetes-Patienten leiden oft parallel an Erkrankungen des Formenkreises des metabolischen Syndroms. Das Manifestationsalter ist gewöhnlich in der mittleren Lebensdekade. Therapeutisch kann zu Beginn der Erkrankung versucht werden, mit diätischen und lebensstilverändernden Maßnahmen die relative Insulinresistenz zu reduzieren. Bei Misserfolg können die Patienten mit oralen Antidiabetika behandelt werden. Bei Progress der Erkrankung und Auftreten eines absoluten Insulinmangels muss als Ultima ratio die Insulinbehandlung in Betracht gezogen werden. [13, 14]

1.2.1 Diabetes mellitus Typ 1

Weniger als 10% aller Diabetes-Erkrankungen fallen auf den Typ 1-Diabetes. Für eine autoimmune Zerstörung der Langerhans-Inseln im Pankreas sprechen die Infiltration der Langerhans Inseln mit autoreaktiven T-Lymphozyten sowie der Nachweis von Autoantikörpern. Die zytoplasmatischen Inselzell-Antikörper (ICA) sind mit einer Nachweisrate von 80 % bei Typ 1-Diabetikern im Blut auffindbar, die Anti-GAD-Antikörper (GADA) und Anti-1A-2-Antikörper sind sogar mit einer gemeinsamen Nachweisrate von >90% vertreten. Zusätzlich lassen sich in 20-90 % der Fälle auch Insulin-Autoantikörper (IAA) nachweisen. Für eine genetische Komponente spricht, dass 20 % der Typ 1-Diabetiker eine positive Familienanamnese für Typ-1-Diabetes haben und über 90 % der Patienten für die HLA-Merkmale DR 3 und/oder DR 4 positiv sind. [13]

1.2.2 Diabetes mellitus Typ 2

Mehr als 90% aller diabetogenen Stoffwechsellagen fallen auf den Typ-2-Diabetes, der typischerweise nach dem 40. Lebensjahr auftritt und in bis zu 80 % der Fälle mit einer Adipositas vergesellschaftet ist. Pathogenetisch spielen 2 Mechanismen eine Rolle. Zum Einen führt bei diesen Patienten eine gestörte Insulinsekretion in der frühen postprandialen Phase zu postprandialer Hyperglykämie. Zum Anderen bewirkt eine herabgesetzte Insulinwirkung an den Effektorzellen, dass erhöhte Insulinspiegel zur zellulären Glukoseverwertung nötig werden. Hohe Insulinspiegel wiederum vermindern die Sensibilität und Dichte der Insulinrezeptoren durch Down-Regulation. Dies erfordert eine weitere Steigerung des Insulinspiegels und führt letztendlich zu einem Circulus vitiosus mit relativer Insulinresistenz.

Diätetische Maßnahmen zur Gewichtsreduktion können durch absinkende Insulinspiegel eine Normalisierung der Sensibilität und Dichte der Rezeptoren bewirken.

1.2.3 Gestationsdiabetes

Mit der Bezeichnung Gestationsdiabetes (GDM) beziehungsweise *gestational diabetes* wurde in der Vergangenheit generell eine erstmals in der Schwangerschaft auftretende diabetische Stoffwechsellage definiert [17]. Im Jahr 2010 einigte sich die internationale Konsensusgruppe *International Association of Diabetes and Pregnancy Study Group* (IADPSG) auf eine Nomenklaturänderung. Seitdem wird beim Diabetes in der Schwangerschaft zwischen manifestem Diabetes und Gestationsdiabetes unterschieden [18].

Die Diagnose eines manifesten Diabetes mellitus in der Schwangerschaft kann gestellt werden, wenn mindestens eines der folgenden Kriterien auf die schwangere Frau zutrifft:

Kriterien	V. a. manifesten DM
Gelegenheitsglukose	≥ 200 mg/dl
Nüchternglukose	≥ 126 mg/dl
HbA _{1c}	≥ 6,5 %

Tabelle 1: Kriterien zur Diagnose eines manifesten DM in der Schwangerschaft. [19]

Zur Diagnose eines Gestationsdiabetes können ein Nüchternblutglukosetest oder ein 75-g oraler Glukosetoleranztest (oGTT) herangezogen werden. Hierfür wird unmittelbar vor Testbeginn der Nüchternblutglukosewert der Schwangeren bestimmt. Danach trinkt sie 75 g Glukose gelöst in 300 ml Wasser schluckweise innerhalb von 3 bis 5 Minuten. Nach 1

Stunde beziehungsweise nach 2 Stunden werden erneute Blutglukosemessungen der Schwangeren durchgeführt. [19] Die Grenzwerte sind in Tabelle 2 dargestellt. Die Diagnose eines GDM ist somit schon mit einem pathologischen Nüchternblutglukosewert möglich. [19]

Zeitpunkt 24+0 – 27+6 SSW	(mg/dl)	(mmol/l)
Nüchtern	92	5,1
Nach 1 Stunde	180	10,0
Nach 2 Stunden	153	8,5

Tabelle 2: Grenzwerte im venösen Plasma zur Diagnose eines Gestationsdiabetes anhand des 75-g oralen Glukosetoleranztestes (oGTT). [19]

Epidemiologische Erhebungen zeigen, dass 90 % aller Diabeteserkrankungen in der Schwangerschaft einem Gestationsdiabetes zuzuschreiben sind und 3 bis 5 % aller Schwangeren insgesamt einen Gestationsdiabetes entwickeln [13, 14, 20]. Andere Quellen aus den USA sprechen sogar davon, dass in den USA 18 % aller Schwangeren einen manifesten und 26 % aller Schwangeren einen Prädiabetes entwickeln, wenn die neuen Definitionskriterien verwendet werden. [21] Gestationsdiabetes mit all seinen Komplikationen hat eine ernstzunehmende Bedeutung in unserer heutigen Gesellschaft. Pathophysiologisch wird davon ausgegangen, dass der Gestationsdiabetes weitestgehend den Prinzipien des Typ-2-Diabetes mellitus entspricht. Während der Schwangerschaft verändert sich der Stoffwechsel der Schwangeren im Sinne einer gesteigerten Aktivität von Prolaktin, humanem Plazentalaktogen (hPL), placentarem Wachstumshormon, Progesteron und Kortisol. Diese Hormone verschieben den Stoffwechsel selbst bei völlig gesunden Schwangeren in Richtung einer diabetogenen Aktivität. [14]

Bei Vorliegen von Risikofaktoren wie genetischer Prädisposition, Übergewicht, hochkalorischer Ernährung und Bewegungsmangel kann zu der in der zweiten Schwangerschaftshälfte physiologisch vorkommenden Insulinresistenz ein relativer Insulinsekretionsdefekt hinzukommen, der zur hyperglykämischen Stoffwechsellage führt. [19] Die dadurch erhöhte Glukosekonzentration wird jedoch zu Beginn noch durch eine gesteigerte Ausschüttung von Insulin und einem transplazentaren Glukosetransport zum Fetus hin kompensiert. Reicht jedoch die Insulin produzierende Kapazität der Inselzellen im Pankreas nicht aus, kann sich ein Schwangerschaftsdiabetes entwickeln. Dies passiert bevorzugt ab dem 2.Trimenon. [14] Aufgrund der typischen metabolischen

Auswirkungen des GDM in Zusammenhang mit vorliegender Adipositas, die denen des Typ 2-Diabetes weitestgehend gleichen, wird beim klassischen GDM auch vom Prä-Typ-2-Diabetes gesprochen. Diese „Frühform“ des Diabetes mellitus Typ 2 ist durch eine ausgeprägte Insulinresistenz und eine gestörte β -Zellfunktion charakterisiert. [22] Aus diesem Grund kann bei Gestationsdiabetes von einer chronischen Funktionsstörung gesprochen werden, welche unentdeckt zu Komplikationen für Mutter und Kind führen können. [23]

Da ein Gestationsdiabetes komplikationsreiche Auswirkungen auf den Schwangerschaftsverlauf und die kindliche Entwicklung haben kann, ist er als eine ernstzunehmende Erkrankung anzusehen und durch fröhschwangerschaftliche Screening-Maßnahmen aufzudecken. [23] Akute Folgen des Gestationsdiabetes sind Schwangerschaftskomplikationen wie Präeklampsie, Polyhydramnion, Frühgeburtlichkeit und perinatale Mortalität. Die Makrosomie des Neugeborenen kann als direkte Folge Geburtstraumata und operative Entbindungen nach sich ziehen. [24-27]. Auch Langzeitfolgen für Schwangere mit Gestationsdiabetes sind bekannt. Es wird davon ausgegangen, dass 35 bis 60 % der Frauen, die einen GDM entwickelten, innerhalb von 10 Jahren an einer manifesten Glukosetoleranzstörung erkranken werden. [28] Das Wiederholungsrisiko für einen erneuten Gestationsdiabetes beträgt laut verschiedener Studien 35 bis 50 %, abhängig von bestehenden Risikofaktoren wie Adipositas, Anzahl der Schwangerschaften, Insulintherapie und Abstand von weniger als 24 Monaten zwischen den Schwangerschaften. [29-31] Auch lassen sich Auswirkungen auf die kindliche Entwicklung in Verbindung mit Gestationsdiabetes bringen. Das Wachstum des Fetus wird durch das erhöhte Glukoseangebot und Veränderungen im Aminosäure- und Lipidprofil und die damit verbundene erhöhte Synthese von Insulin und Wachstumsfaktoren direkt stimuliert und kann zu fetaler Makrosomie und fetaler Organomegalie beziehungsweise Organodysplasie führen. Auch eine höhere Rate an neonataler Respirationsinsuffizienz sowie metabolischen Komplikationen wie neonatale Hypoglykämien, Hyperbilirubinämien und Hypokalzämien tritt bei Kindern von Müttern mit Gestationsdiabetes vermehrt auf. [32-34] [35]. Der Fetus kann somit in Form einer Fetopathia diabetica vom Glukose-Ungleichgewicht der Schwangeren direkt betroffen sein. Experten schätzen eine dreimal höhere Fehlbildungsrate, welche mit dem Maß der ungenügenden Blutzuckereinstellung anzusteigen scheint. [36]

Ein frühzeitig erkannter und optimal eingestellter Gestationsdiabetes kann maternale und fetale Morbidität minimieren und den Schwangerschaftsverlauf günstig beeinflussen

[33, 37, 38]. Crowther et al. konnten in ihrer randomisiert kontrollierten Studie zeigen, dass die Behandlung eines Gestationsdiabetes die Rate von schwerwiegenden neonatalen Komplikationen vermindert. [37]

Um einen Gestationsdiabetes möglichst früh behandeln zu können, ist ein Screening von Schwangeren empfehlenswert. Hierbei werden in den aktuellen Leitlinien zwei unterschiedliche Strategien empfohlen. Zum einen kann ein generelles Screening aller Schwangeren verfolgt werden oder aber ein selektives Screening bei Vorliegen von Risikofaktoren erfolgen. [19] Als Screeningmittel eignet sich der 75-g-orale Glukosetoleranztest (oGTT) als „Goldstandard“ für die Diagnostik eines GDM. [19]

Die Behandlung eines Gestationsdiabetes basiert auf mehreren Säulen. Ernährungsumstellung, Bewegungstherapie und pharmakologische Therapie als *Ultima Ratio* sind die wesentlichen Therapieoptionen. Die internationale Konsensusgesellschaft empfiehlt die folgenden Konzepte: Ziele der Ernährungstherapie für die werdende Mutter sind, Normoglykämie zu erhalten, Ketosen zu vermeiden, adäquate Gewichtszunahme sicherzustellen und insgesamt für ein fetales Wohlbefinden zu sorgen [39]. Der empfohlene Kalorienbedarf für Schwangere berücksichtigt den BMI vor Schwangerschaft und die körperliche Aktivität der Schwangeren. [40] Die Empfehlungen sind in folgender Tabelle dargestellt.

	Kcal / kg KG pro Tag
Untergewicht	35 - 40
Normalgewicht	30 - 34
Übergewicht	25 - 29
Morbide Adipositas	< 20

Tabelle 3: Empfohlener Kalorienbedarf pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag für Schwangere. [19, 41]

Der Kohlenhydratanteil in der Ernährung sollte 40 bis 50 % betragen, der Proteinanteil sollte weniger als 20% betragen und der Anteil von Fetten an der Ernährung sollte 30 bis 35 % ausmachen, wovon allerdings nicht mehr als 7 % gesättigte Fettsäuren sein sollten. [19] Außerdem wird empfohlen, Lebensmittel mit hohem Ballaststoffanteil und niedrigem glykämischen Index bevorzugt zu verwenden und die Nahrungsaufnahme auf 5 bis 6 Mahlzeiten pro Tag aufzuteilen. [19] Sollten die Stoffwechselziele durch die alleinige Ernährungsumstellung nicht einzuhalten sein, muss eine Insulintherapie in Betracht gezogen werden. [42] Orale Antidiabetika können von Schwangeren aufgrund von einem

erhöhten Risiko für fetale Missbildungen nicht eingenommen werden. Bei der Insulintherapie sprechen sich die aktuellen Empfehlungen dahingehend aus, eine Insulinindikation erstmals innerhalb von 2 Wochen nach Beginn der Ernährungsumstellung unter Berücksichtigung von Blutglukosewerten und biometrischen Daten von Mutter und Fetus zu überprüfen. Bei Nüchtern-Glukosewerten von größer als 110 mg/dl sollte eine sofortige Insulintherapie initiiert werden. Idealerweise sollte eine intensivisierte konventionelle Insulintherapie (ICT) mit einer Insulintagesdosis von 0,4 I.E. Humaninsulin pro kg/KG angestrebt und Unterdosierungen vermieden werden. [19]

1.3 Stoffwechsel in der Schwangerschaft

1.3.1 Essentielle Fettsäuren und LC-PUFA

Der menschliche Organismus ist in der Lage, Nährstoffe aus der Nahrung umzuwandeln, in Energiespeichern zu konservieren und zur Energiegewinnung einzusetzen. Die biochemisch relevanten Stoffklassen sind Proteine, Peptide und deren kleinste Bausteine, Aminosäuren, außerdem Kohlenhydrate, dessen bedeutendster Vertreter die Glucose darstellt, sowie Lipide und Fettsäuren. Lipide lassen sich drei Funktionsgruppen zuordnen. In Form von Triglyzeriden dienen sie als Energiespeicher in Zeiten üppiger Nahrungsversorgung. Als Phospholipide sind sie Grundsubstanz aller biologischen Membranen und in Form der Gruppe der Eikosanoide, die sich von den Fettsäuren Dihomogammalinolensäure (DGLA), Arachidonsäure (AA) und Eicosapentaensäure (EPA) ableiten, gehören sie zu den wichtigsten Hormonen und Signalstoffen. Eine Vielzahl von Enzymen, die diese Funktionen erst möglich machen, sind die biochemische Grundlage all dieser Stoffwechselprozesse. Diese Enzyme sorgen für die Metabolisierung der Einzelbausteine. [43]

Unser Organismus verfügt über die enzymatische Ausstattung, gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren selbst zu bilden, sowie mit der Nahrung aufgenommene Fettsäuren umzuwandeln. Fettsäuren sind unterschiedlich lange Ketten aus Kohlenwasserstoffmolekülen, an deren Ende sich eine Carboxylgruppe befindet. Typischerweise ist die Kohlenwasserstoffkette nicht verzweigt und besteht aus 14 bis 20 CH_2 -Gruppen. Ungesättigte Fettsäuren werden nach der Position der ersten Doppelbindung vom Methylende an gezählt als omega-3- (n-3-), omega-6- (n-6-) bzw. omega-9- (n-9-) Fettsäuren bezeichnet. Desaturasen, spezielle Enzyme, die Fettsäuren zu mehrfach ungesättigten Fettsäuren umwandeln können, können jedoch nur

Doppelbindungen zwischen den ersten 10 C-Atomen der Kohlenwasserstoffkette einführen, weshalb die Fettsäuren Linolsäure (LA; 18:2n-6) und α -Linolensäure (ALA; 18:3n-3) als essenzielle Fettsäuren mit der Nahrung aufgenommen werden müssen. Linolsäure ist vor allem in Maiskeimöl, Distelöl und Sonnenblumenöl zu finden, während α -Linolensäure bevorzugt in Leinöl, Rapsöl, Sojaöl, Walnüssen und anderen Nüssen, sowie in grünem Blattgemüse vorkommt. Die beiden essenziellen Fettsäuren LA und ALA können durch enzymatische Desaturation und Kettenelongation zu den mehrfach ungesättigten Fettsäuren Arachidonsäure (AA; 20:4n-6) und Docosahexaensäure (DHA; 22:6n-3) umgewandelt werden [44] (Abbildung 1). Ab einer Länge von mehr als 20 CH₂-Gruppen spricht man von langkettigen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren (*long chain polyunsaturated fatty acid*; LC-PUFA). Besonders hohe Konzentrationen der LC-PUFA DHA finden sich im menschlichen Nervensystem, hier vor allem in synaptosomalen Membranen und in den Fotorezeptoren der Retina. Der Gehalt an DHA im sich entwickelnden kindlichen Nervensystem ist von besonderer Bedeutung und beeinflusst neben Membranfluidität, elektrischer Impulsausbreitung und synaptischer Vesikelfreisetzung auch die Fotorezeptordifferenzierung und Expression bestimmter Gene im Gehirn. [45] [14, 46] DHA und ihre Vorläuferfettsäure Eicosapentaensäure (EPA; 20:5n-3) modulieren darüber hinaus eine Vielzahl von immunologischen Funktionen. [47] Arachidonsäure, eine n-6 LC-PUFA, welche ebenfalls Bestandteil aller Zellmembranen ist, dient als Vorläufer bioaktiver Eikosanoide, wie z. B. Prostaglandine, Thromboxane und Leukotriene. [48] Arachidonsäure wird durch die Phospholipase A₂ aus den Phospholipiden der Zellmembranen hydrolysiert und steht als freie Fettsäure für die weitere Prozessierung zur Verfügung. Die Umwandlung von Arachidonsäure in bioaktive Mediatoren erfolgt über drei verschiedene Stoffwechselwege. Die Schlüsselenzyme für die Umwandlung sind Cyclooxygenase (COX), Lipooxygenase und Cytochrom P 450 (CYP). [49-52] Die Produkte dieser Stoffwechselwege, Eikosanoide genannt, gelten als autokrine und parakrine Botenstoffe, die inflammatorische Prozesse steuern. [51, 53] In Studien konnte gezeigt werden, dass erhöhte Glukoselevel die Expression von COX-2-Enzymen in humanen Inselzellen erhöhen. [54, 55] Es gibt zunehmende Evidenz dafür, dass Arachidonsäure als Vorläufer der bioaktiven Metabolite Eikosanoide eine wichtige Rolle bei der inflammatorisch-induzierten β -Zelldestruktion und Insulinresistenz beim Typ-1 und Typ-2 Diabetes spielt. [56]

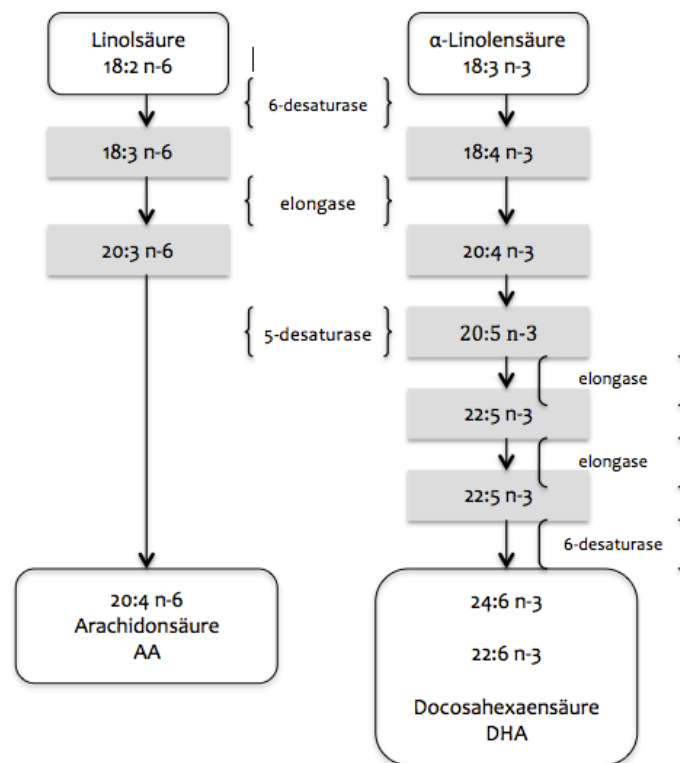


Abbildung 1: Fettsäuresynthese von Linolsäure und α -Linolensäure

1.3.2 Bedeutung von LC-PUFA in der Schwangerschaft

In der Schwangerschaft verändern sich zahlreiche Stoffwechselprozesse des mütterlichen Organismus, um sich den Anforderungen des fetalen Wachstums stellen zu können [57]. Im ersten Trimenon der Schwangerschaft tritt eine anabole Stoffwechsellage ein, bei der das mütterliche Körpergewicht schrittweise zunimmt und zunehmend Fettgewebe deponiert wird. [58, 59]. Die Speicherung von Fettgewebe wird durch eine im ersten Trimenon der Schwangerschaft erhöhte Insulinsensitivität begünstigt. [60]

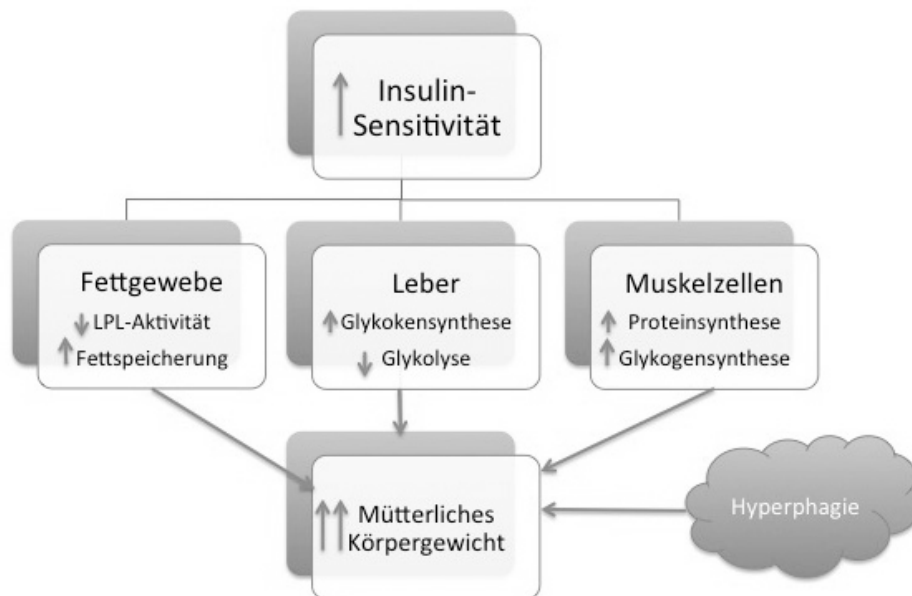


Abbildung 2: Mütterlicher Metabolismus im ersten Trimester der Schwangerschaft. In dieser Phase der Schwangerschaft werden die maternalen Speicher für Fett, Proteine und Kohlenhydrate durch die erhöhte Insulin-Sensitivität und die Hyperphagie gefüllt. Vgl. [60]

Mit der stark zunehmenden Energie- und Fettdeposition im wachsenden Feten im dritten Trimenon der Schwangerschaft verändert sich der maternale Lipidstoffwechsel in Richtung einer Lipidkatabolie, so dass der Plazenta vermehrt Substrat für den Transport zum Feten hin angeliefert werden kann. [60] Auch das fetale Gehirn gewinnt im letzten Drittel der Schwangerschaft sehr stark an Gewicht. Die Trockensubstanz des kindlichen Gehirns besteht zu etwa der Hälfte aus Lipiden, die praktisch vollständig strukturbildende Funktionen in Zellmembranen und Myelinscheiden haben. Neben den nichtessenziellen Lipiden, die im mütterlichen oder fetalen Organismus z. B. aus Glukose synthetisiert werden können, werden im hohen Maße essenzielle, mehrfach ungesättigte Fettsäuren in die Strukturlipide des wachsenden Hirns eingebaut, insbesondere die LC-PUFA DHA und AA [61, 62]. Der Fetus ist jedoch nicht in der Lage, seinen LC-PUFA-Bedarf selbstständig zu decken. Die fetale Leber weist zwar schon zu einem frühen Zeitpunkt der Schwangerschaft die enzymatische Ausstattung zu einer LC-PUFA Synthese aus den Vorläufer-PUFA auf, aber die endogene Syntheseleistung des Fetus *in utero* ist niedrig und reicht nicht aus, um den großen Bedarf für das Hirnwachstum zu decken [2]. Die Plazenta selbst zeigt nur in geringem Maße eine selbstständige Desaturase-Kapazität, insbesondere nur für die Konversion von LA zu AA. Für die Umwandlung von ALA in DHA besitzt die Plazenta jedoch nur sehr geringe Leistungsfähigkeit. [3] Da die Plazenta kaum

Desaturase-Aktivität besitzt, muss der Bedarf des Fetus durch plazentaren materno-fetalen Transport gedeckt werden [11, 63-65].

1.3.3 LC-PUFA-Transfer über die Plazenta

Der fetale Blutkreislauf ist vom mütterlichen Blut durch die plazentare Membran getrennt. Diese Barriere besteht aus fetalem vaskulärem Endothel, villösem Stroma, Zytotrophoblasten und dem die maternale Seite bekleidenden Syncytiotrophoblasten. Die Zellschicht des Zytotrophoblasten verdünnt sich nach und nach und verschwindet in der 20. Schwangerschaftswoche, sodass die plazentare Barriere danach nur noch aus drei sehr dünnen Schichten besteht und eine Annäherung von Syncytiotrophoblast und fetalem kapillarem Endothel möglich wird. Eine Fettsäureaufnahme in Säugetierzellen über die aus einer Phospholipiddoppelschicht bestehende Zellmembran kann auf zwei unterschiedlichen Wegen erfolgen, zum Einen über passive Diffusion in Zuge eines Konzentrationsgradienten, zum Anderen über einen sättigungsfähigen, carrier-vermittelten Transportmechanismus [66, 67]. Freie Fettsäuren (NEFA) können die plazentare Membran über passive Diffusion passieren. Im dritten Trimenon der Schwangerschaft sind jedoch die im maternalen Blutplasma vorhandenen LC-PUFA im Wesentlichen in veresterten Lipiden in zirkulierenden Lipoproteinen enthalten, nur ein kleiner Teil ist frei an Albumin assoziiert. Deshalb kommt den plazentaren Lipasen, epitheliale Lipase (hEL) und Lipoproteinlipase (hLPL) eine besondere Bedeutung zu, da sie die in Lipoproteinen enthaltenen Triglyzeride hydrolysieren und freie, nicht veresterte Fettsäuren (NEFA) freisetzen, welche dann die Plazentamembran passieren können. [68] Der Transfer von NEFA durch passive Diffusion ist abhängig vom materno-fetalen Konzentrationsgradienten. Im Laufe der Schwangerschaft steigt dieser Gradient stetig an und fördert so den materno-fetalen Fettsäuretransport [60]. Neben der passiven Diffusion spielt offenbar der aktive Fettsäuretransport durch verschiedene Fettsäuretransport- und bindungsproteine über die Plazenta ebenfalls eine wichtige Rolle. In die plazentare Fettsäureaufnahme sind vornehmlich die Proteine vom Typ Fettsäuretransportprotein mit Acyl-CoA-Synthetase-Aktivität (FATP), Fettsäuretranslokase (FAT/CD36) und Plasmamembranfettsäurebindungsprotein (P-FABPpm) involviert [9, 69]. Im humanen und murinen Genom sind bislang sechs FATP-Gene (FATP-1 bis FATP-6) identifiziert worden, die in verschiedenen Geweben unterschiedlich stark exprimiert werden. Insbesondere FATP-1 und FATP-4 sind in der Plazenta in hohem Maße vorhanden und lassen eine maßgebliche Rolle im plazentaren

Fettsäuretransport vermuten [70, 71]. Die Bedeutung von FATP-1 und FATP-4 wird durch die Korrelation ihrer Expression mit den DHA-Gehalten im Nabelschnurblut unterstrichen [72].

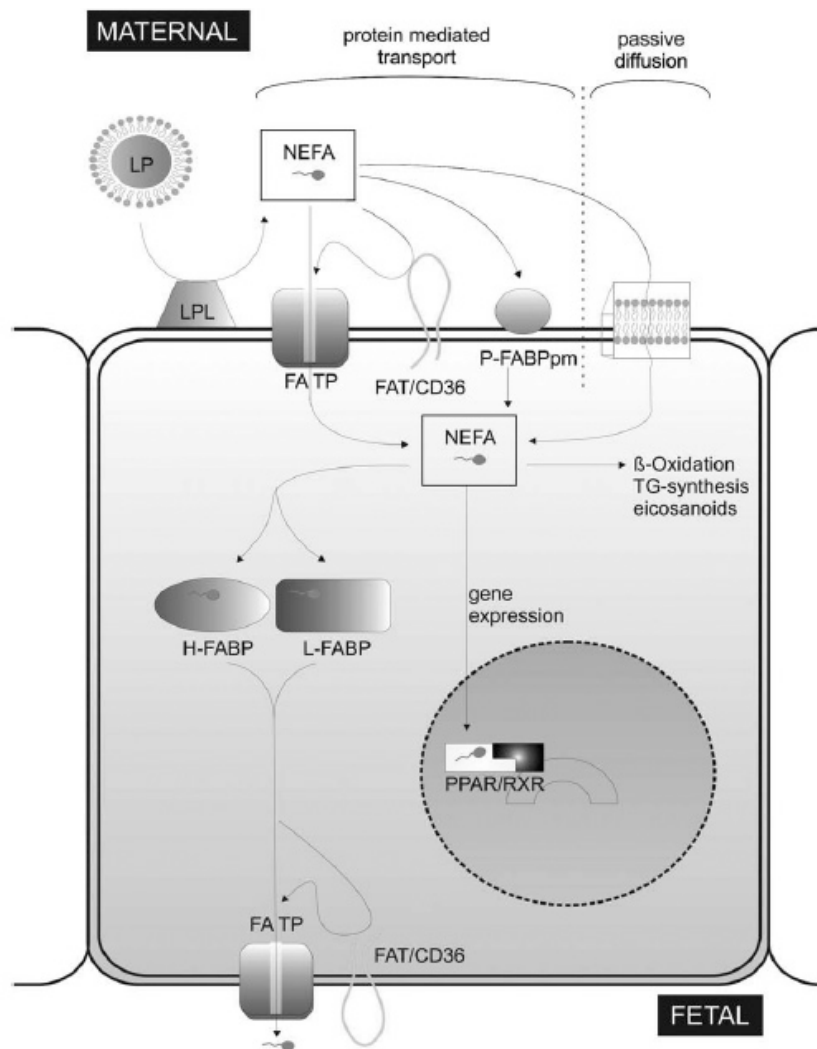


Abbildung 3: Abbildung aus Hanebutt et al. (2008). Theoretisches Modell des Fettsäuretransports über die Plazenta. LP, Lipoprotein; LPL, Lipoproteinlipase; NEFA, nicht veresterte freie Fettsäuren; FATP, Fettsäuretransportprotein; FAT, Fettsäuretranslokase; P-FABPpm, placentares Plasmamembranfettsäurebindungsprotein; L-FABP, Leber-Fettsäurebindungsprotein; H-FABP, Herz-Fettsäurebindungsprotein; PPAR, Peroxisomaler Proliferator-Aktivator-Rezeptor; RXR, Retinoid-X-Rezeptor.

Studien zeigten in den Blutlipiden des Fetus verglichen mit mütterlichem Blut deutlich höhere LC-PUFA-Anteile und geringere Anteile der Vorläufer LA und ALA als im mütterlichen Blut [73, 74]. Diese präferenzielle fetale Anreicherung der LC-PUFA scheint der raschen Gehirnentwicklung im letzten Trimenon zu dienen und wird durch einen bevorzugten placentaren LC-PUFA Transport erreicht, was durch Experimente *in vitro*,

Konzentrationsmessungen im mütterlichen und fetalen Blut sowie auch durch direkte Messung des plazentaren Transportes *in vivo* mit natürlichen stabilen Isotopen belegt wurde [75, 76]. Larque und Mitarbeiter verabreichten 4 Stunden vor einem geplanten Kaiserschnitt gesunden schwangeren Frauen per os eine definierte Menge Fettsäuren, die mit der natürlichen Variante des schweren stabilen Kohlenstoffisotops ^{13}C markiert wurden. Vor der Tracergabe (- 4 h vor Entbindung), sowie zu den Zeitpunkten (-3 h, -2 h, -1 h und +1 h) wurden Blutproben von der Mutter entnommen. Zusätzlich hierzu wurden Nabelschnurblut und Plazentabiopsate unmittelbar nach der Entbindung asserviert. Die Messung der Fettsäureverteilung in mütterlichem Blut, Nabelschnurblut und Plazentagewebe bestätigte die hohen Konzentrationen der Fettsäuren im mütterlichen Blut. Dies passt zu der Annahme, dass ein Fettsäurekonzentrationsgradient von der Mutter zum Kind existiert, der den Fettsäuretransport antreibt. [76] Die prozentualen Anteile von DHA und den LC-PUFA insgesamt waren jedoch in der Nabelschnur signifikant höher als im mütterlichen Blut. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der Hypothese eines präferenziellen LC-PUFA Transports zum Neugeborenen. [76]

1.3.4 Fettsäuretransportproteine

1.3.4.1 Die FATP-Familie

Die Familie der FATPs besteht aus 6 identifizierten strukturähnlichen Mitgliedern, die jedoch nicht in allen humanen Geweben gleich häufig exprimiert werden, sondern ein individuelles Expressionsverhalten darlegen [63]. FATP-1 und FATP-4 sind vor allem in Plazentagewebe, aber auch in Herzmuskel, Skelettmuskel und adipösen Zellen zu finden [77, 78].

FATP-2, FATP-3 und FATP-5 und FATP-6 haben in der Plazenta einen weniger hohen Stellenwert [79]. Über FATP-1 ist bekannt, dass es in Adipozyten und in Skelettmuskelzellen in Abhängigkeit von Insulin in der Lage ist, von seinem intrazellulären Ursprungsort an die Plasmamembran zu wandern. Diese Translokation korreliert mit einer erhöhten Fettsäureaufnahme in die Zelle. [80-82] In *knock-out* Mäusen führt der Verlust von FATP-1 zu einem kompletten Erliegen der insulinabhängigen FS-Aufnahme während die basale FS-Aufnahme jedoch unbeeinflusst bleibt. [82] In molekulargenetischen Studien mit Fokus auf Polymorphismen in FATP-Genen zeigte sich, dass ein SNP (Einzelnukleotidpolymorphismus) im Gen für FATP-1 mit signifikant höheren Triglyzeridleveln assoziiert zu sein scheint. [83]

FATP-2 ist in Leber- und Nierenzellen relativ stark exprimiert und scheint mitverantwortlich zu sein für die Neusynthese von Gallensäuren. [84] Der Verlust von FATP-2 in knock-out Mäusen zeigte keinen auffälligen Phänotyp und normal funktionierende Leber- und Nierenzellen. [85]

Über die Funktion von FATP-3 ist noch relativ wenig bekannt. Es scheint hauptsächlich in Lungenzellen, Zellen der Nebennierenrinde, Ovarien und des Hodens exprimiert zu sein. [86] In knock-down Versuchen zeigte sich, dass FATP-3 in Leydig-Zellen für 30 % der PUFA- und LC-PUFA-Synthetaseaktivität verantwortlich zu sein scheint, während es an der FS-Aufnahme direkt nicht beteiligt ist. [87]

FATP-4 ist eng verwandt mit FATP-1 und ebenfalls wie FATP-1 hoch exprimiert in Adipozyten, Skelettmuskelzellen, Herzmuskelzellen und der Plazenta. [86] Anders als FATP-1 scheint die FATP-4-Expression allerdings nicht reguliert zu sein. [88] Die Lokalisation von FATP-4 wird in verschiedenen Studien mit widersprüchlichen Ergebnissen kontrovers diskutiert. Initiale Studien gingen davon aus, dass FATP-4 an der Plasmamembran lokalisiert ist, wohingegen neuere Studien dies widerlegen und davon ausgehen, dass FATP-4 ausschließlich intrazellulär lokalisiert ist. [80, 81, 89] In knock-out Versuchen mit Deletion von FATP-4, zeigte sich, dass die Mäuse nicht überlebensfähig waren und in der frühen Embryogenese bereits verstarben. [90] Dieses Ergebnis unterstreicht die Wichtigkeit von FATP-4 für den materno-fetalen FS-Transfer während der Embryogenese. [90] Gertow et al. entdeckten eine Verbindung zwischen einem G/A Polymorphismus im Exon 3 des Gens für FATP-4 und zahlreiche Symptome einer Insulinresistenz der Patienten. [91]

Das Fettsäuretransportprotein FATP-5 ist ausschließlich in Hepatozyten exprimiert und als einziges FATP in der Lage als Gallensäuren-CoA-Synthetase zu wirken. [92, 93]

Über FATP-6 ist bekannt, dass es hauptsächlich in Herzmuskelzellen exprimiert ist, zu einem geringeren Teil jedoch auch in Haarfollikelzellen und Hautzellen vorkommt. [94, 95] Überexpression von FATP-6 führt zu erhöhter LC-PUFA-Aufnahme und erhöhter Acyl-CoA-Synthetaseleistung. [86]

Proteinname	FATP-1	FATP-2	FATP-3	FATP-4	FATP-5	FATP-6
Humaner Genname	SLC27A1	SLC27A2	SLC27A3	SLC27A4	SLC27A5	SLC27A6
Humaner Genlokus	19p13.1	15q21.2	1q21.1	9q34	19q13.4	5q23
Lokalisation:						
Plazenta	++	-	-	++	-	-
Herz	++	-	-	+	-	++
Dünndarm	-	-	-	++	-	-
Leber	-	++	+	+	++	-
Muskel	++	-	-	+	-	-
Fett	++	-	-	±	-	-

Tabelle 4: Charakterisierung der einzelnen FATPs. ++ hoch exprimiert; + exprimiert, ± schwach exprimiert, - nicht exprimiert Vgl. [9, 79]

1.3.4.2 Fettsäurebindungsprotein (FABPpm)

FABPpm ist ein peripheres Membranprotein am äußeren Faltblatt der Plasmamembran. Das ubiquitär vorkommende FABPpm ist eng verwandt mit der mitochondrialen Aspartat-Amino-Transferase (AspAT) und zeigt eine hohe AspAT-Aktivität [96]. Die Präsenz von FABPpm wurde in der humanen und der Schafsplazenta in zahlreichen Studien festgestellt. Das plazentare FABPpm hatte keine AspAT-Aktivität mit etwas anderen Eigenschaften sowie einer speziellen Funktion als Fettsäuretransporter mit eindeutiger Präferenz LC-PUFA zu transportieren als das ubiquitär vorkommende FABPpm. [96-98].

1.3.4.3 Fettsäuretranslokase (FAT/CD36)

FAT/CD36 gehört zu einer Gruppe von Bindungsproteinen, die für den Transport von langkettigen ungesättigten Fettsäuren durch die Phospholipiddoppelschicht zur Verfügung stehen [99]. Es ist eine stark glykosylierte Fettsäuretranslokase, deren Sequenz zu 85% homolog ist zu der Sequenz von Glykoprotein IV (CD36), einem integralen Membranprotein. Über FAT/CD36 ist bekannt, dass es als Scavenger-Rezeptor Klasse B-Protein mit 2 Transmembranregionen eine wichtige Funktion in Angiogenese, Arteriosklerose, Inflamationsprozesse und den für uns interessanten Lipidmetabolismus hat. [100] Es erleichtert Transportprozesse von LC-PUFA in Herz- und Skelettmuskelzellen. [100] Aber auch in der Plazenta ist es in der plazentaren Membran, den Microvilli und der Basalmembran zugegen [70]. Verglichen mit FABPpm und FATPs

ist FAT/CD36 in der Plazenta in der Lage, als multifunktionelles Membranprotein eine Reihe von potenziellen Liganden zu binden. Hierzu gehören freie Fettsäuren, Kollagen, Thrombospondin und oxidiertes LDL. [101-104]

1.3.4.4 Adipozyten-Fettsäurebindungsprotein (aFABP)

Das Adipozyten-Fettsäurebindungsprotein ist bekannt als Transportprotein, welches nicht selektiv Fettsäuren über die Plasmamembran transportiert und so eine aktive Transportfunktion vermittelt. [72] In der Plazenta hat es bislang wenig Erwähnung gefunden, da bislang keine spezifische Überexpression zum Transport von mehrfach ungesättigten Fettsäuren bekannt ist [72]. Neuste Forschungserkenntnisse an Hühner-Adipozyten lassen vermuten, dass über den aFABP-Pfad der Lipid-Metabolismus beeinflusst wird [105].

1.3.5 Fettsäuredesaturasen (FADS)

Der menschliche Organismus ist in der Lage, LC-PUFA aus der Nahrung direkt aufzunehmen oder aber mit Hilfe bestimmter Enzyme LC-PUFA selbst herzustellen. Fettsäuredesaturasen (FADS) sind diese Enzyme, welche im Wechsel mit Elongasen die essentiellen Fettsäuren LA und ALA in die LC-PUFA AA und DHA desaturieren können. Die einzelnen Schritte dieser Desaturierung sind in Abbildung 1 (Kapitel 1.3.1) dargestellt. Während der Entwicklung des Fetus ist dieser auf einen ausreichenden Vorrat an LC-PUFA angewiesen, um Hirnreife und Entwicklung der Sehbahn optimal durchzuführen. [62] Die Desaturase-Aktivität in der fetalen Leber ist allerdings nur von sehr untergeordneter Bedeutung, gemessen an dem Bedarf, den der Fetus zur Hirnentwicklung benötigt. [64, 106, 107] Der Fetus ist deshalb auf die LC-PUFA-Versorgung durch die Mutter angewiesen. Die Plazenta selbst ist bis zu einem gewissen Maße fähig, LC-PUFA zu synthetisieren, um diese zum Fetus zu transferieren [107]. Allerdings scheint die Expression von $\delta 5$ -Desaturase (FADS-1) und $\delta 6$ -Desaturase (FADS-2) in der Plazenta nicht ausreichend zu sein, um die benötigte Menge an LC-PUFA für das Hirngrößenwachstum des Fetus bereitzustellen. [65]

In Studien, die genetische Polymorphismen in den Genen für FADS-1 und FADS-2 untersuchten, wurde festgestellt, dass signifikante Zusammenhänge zwischen SNPs und unterschiedlich hohen LC-PUFA-Mengen im Blutplasma und den Erythrozyten dieser Probanden bestehen. [108, 109] Außerdem wurde eine höhere Rate an DHA-Synthese im

Blut schwangerer Frauen festgestellt als in vergleichbaren Blutproben von nichtschwangeren Frauen und Männern. [109] Es wurde die Annahme aufgestellt, dass erhöhte Östrogenspiegel im Blut schwangerer Frauen für höhere LC-PUFA-Konzentrationen im Blut verantwortlich zu sein scheinen, damit der erhöhte LC-PUFA-Bedarf des Fetus gestillt werden kann [109] Andere Studien an Frauen, die die Antibabypille einnahmen und damit exogen Östrogene zuführten sowie an Transsexuellen, die durch Östrogeneinnahme eine Umwandlung von Mann zu Frau erwirken wollten, bestätigten die erhöhten LC-PUFA-Werte im Blut. [110, 111]

1.3.6 Lipoproteinlipase und endotheliale Lipase (hLPL und hEL)

Essenzielle Fettsäuren gelangen vom maternalen in den fetalen Kreislauf, indem sie als Triglyzeride in maternalen triglyzeridreichen Lipoproteinen zur Plazenta transportiert werden. Dort werden sie von Lipoproteinrezeptoren aufgenommen und anschließend durch die plazentare Lipoproteinlipase (hLPL) und endotheliale Lipase (hEL) in freie Fettsäuren hydrolysiert [59, 112]. Beide Lipasen wirken hierbei als initiale Schrittmacher des plazentaren Fettsäuretransfers, da sie die essenziellen Fettsäuren aus den Triglyzeriden, die an Chylomikronen oder LDL gebunden sind, heraus hydrolysieren können. Somit können sie zur weiteren Verwendung im plazentaren Kreislauf genutzt werden. [113] Obwohl hLPL und hEL in ihrer primären Aminosäuresequenz eine Homologierate von 44 % besitzen, zeigen beide Enzyme doch ein unterschiedliches Substratpräferenzmuster [68]. hLPL hydrolysiert bevorzugt Triglyzeride aus triglyzeridreichen Lipoproteinen wie Chylomikronen oder LDL und IDL, wohingegen die Phospholipase-Aktivität von hLPL eher gering ist [114, 115]. Im Gegensatz dazu verwertet hEL sowohl Triglyzeride als auch Phospholipide aus den restlichen Lipoproteingruppen und aus HDL in der Leber [116]. Anschließend können diese NEFA in der Plazenta verestert oder oxidiert werden, bis sie über einen erleichterten Transportmechanismus mittels Fettsäuretransportproteinen zum Fetus transportiert werden [69]. Primär ist hEL als Phospholipase aktiv mit einer hohen Phospholipase-A1-Aktivität und einer eingeschränkten Kapazität, n-2 gebundene ungesättigte Fettsäuren aus Phospholipiden zu hydrolysieren [117]. Verglichen mit der Triglyzeridlipase-Aktivität von hLPL ist die von hEL sehr gering [115]. Die endotheliale Lipase scheint während des gesamten Gestationszeitraums in der Plazenta von Bedeutung zu sein, während die hLPL nur zu Anfang der Schwangerschaft in der Plazenta hoch exprimiert ist. [68] Gegen Ende der Gestation ist hLPL im Plazentagewebe nicht mehr aufzufinden, sodass davon

ausgegangen wird, dass sie nicht mehr benötigt zu werden scheint. Lediglich in placentaren Gefäßen scheinen beide Enzyme bis zum Ende der Schwangerschaft gleichbleibend exprimiert zu sein. [68]

1.3.7 Plazentarer Fettsäuretransfer in komplizierten Schwangerschaften

In Schwangerschaften mit gestörter plazentarer Funktion wie zum Beispiel bei Schwangeren mit Gestationsdiabetes oder bei intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR) ist anzunehmen, dass es zu einem fehlerhaftem Transport von LC-PUFA kommt [68]. Wijendran et al. und Thomas et al. haben in ihren Versuchsreihen mit schwangeren Diabetikerinnen zeigen können, dass eine Diskrepanz zwischen normalen LC-PUFA-Gehalten in mütterlichen Plasmaphospholipiden und Erythrozyten sowie reduzierten LC-PUFA-Anteilen in der Phospholipidfraktion von Nabelschnurblut besteht. [8, 118, 119] Bitsanis et al. fanden heraus, dass die LC-PUFAs DHA und AA in der Plazenta von Schwangeren mit Diabetes mellitus signifikant erniedrigt sind verglichen mit einer Kontrollgruppe von gesunden Schwangeren [7]. Diese Arbeiten weisen darauf hin, dass der LC-PUFA-Transport in der Plazenta von Diabetikerinnen eventuell alteriert ist. Der verminderte Anteil an LC-PUFA bei Neugeborenen von Müttern mit GDM könnte verantwortlich für eine verzögerte Hirnreife und verzögerte intellektuelle Entwicklung dieser Neugeborenen sein. [120] Ornoy et al. stellten fest, dass mütterlicher Diabetes mellitus in der Schwangerschaft die Aufmerksamkeitsspanne und motorischen Funktionen ihrer Kinder im Schulalter ungünstig beeinflusst. [121] In zahlreichen anderen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen mütterlichem DHA-Gehalt im Blut, DHA-Einnahme während der Schwangerschaft und der nachfolgenden kognitiven Entwicklung des Kindes hergestellt werden. [4, 122, 123]

1.4 Effekte von LC-PUFA auf die neuronale Entwicklung des Kindes

Der Einfluss von LC-PUFA-Verzehr während der Schwangerschaft auf die neuronale Entwicklung des Kindes ist in großen Kohortenstudien getestet worden. Hibbeln et al. fanden 2007 in der ALSPAC-Studie mit 11875 Teilnehmern heraus, dass ein mütterlicher Meeresfrüchteverzehr von weniger als 340 Gramm pro Woche das Risiko der Kinder signifikant erhöht, in kognitiven, kommunikativen und sozialen Fertigkeiten in der untersten Quartile abzuschneiden, verglichen mit einem mütterlichen Meeresfrüchteverzehr von mehr als 340 Gramm pro Woche [4]. Im Jahre 2004 wurden von der Food and Drug Administration (FDA) und der Environmental Protection Agency

(EPA) die Empfehlung herausgegeben, dass schwangere Frauen ihren Meeresfrüchte- und Fischkonsum unter 340 g/ Woche halten sollten, da eine höhere Aufnahme von Fischprodukten zu einer kritischen Aufnahme von Quecksilber führen kann [124]. Die ALSPAC-Studie zeigte jedoch, dass diese Empfehlung mit einer verzögerten Entwicklung der Kinder einhergehen kann. Hibbeln et al. konnten damit verdeutlichen, dass das Risiko schädliche Effekte durch niedrigen Fischverzehr zu erleiden größer ist als das Risiko, durch Quecksilberverzehr Schaden zu nehmen. Oken et al. schufen in der Dänischen Nationalen Geburtskohorte von 2008 mit einer Teilnehmerzahl von 25466 Teilnehmern zusätzliche Evidenz dafür, dass mütterlicher Fischverzehr in der Schwangerschaft zu höheren Entwicklungsscores der Kinder im Alter von 18 Monaten führte [5]. Eine Metaanalyse von acht randomisiert kontrollierten Studien ergab, dass ein maternaler DHA-Verzehr von mehr als 100 Gramm pro Woche während der Schwangerschaft zu besseren Ergebnissen in kognitiven Tests wie IQ-Scores, verbalen Fähigkeiten und motorischem Geschick der Kinder im Kleinkindalter führte [6].

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Der Gestationsdiabetes und die damit einhergehenden möglichen Folgeschäden für das ungeborene Kind stehen im zentralen Blickpunkt dieser Arbeit. Die wissenschaftlichen Vorarbeiten lassen erkennen, dass es einen bevorzugten Transport von LC-PUFA zum Fetus über die Plazenta zu geben scheint. Ziel dieser Arbeit ist es, folgende Fragen zu klären:

- Welcher Anteil der von der Mutter oral mit der Nahrung aufgenommen markierten Fettsäuren tritt 12 Stunden nach der Aufnahme in der Plazenta im fetalen Blutkreislauf auf?
- Bestehen Unterschiede in der Verteilung der ¹³C-markierten Fettsäuren zwischen den einzelnen Lipidklassen auf der mütterlichen Seite bzw. auf der fetalen Seite?
- Welche Bedeutung haben die verschiedenen Lipidfraktionen, also Phospholipide, Triglyceride, Cholesterolester und nicht veresterte Fettsäuren im fetalen Plasma für den Transport von Fettsäuren?
- Welche Veränderungen im Fettsäuretransport ergeben sich durch den mütterlichen GDM/DM I im Vergleich zu einer gesunden Referenzgruppe?

- Ein weiteres Ziel ist die Untersuchung der zugrundeliegenden placentaren Transportprozesse für Fettsäuren. Hierbei wurden die Fettsäuretransportproteine FATP-1, FATP-4, FATP-6, aFABP, FABPpm, FAT/CD36 untersucht sowie die Fettsäuredesaturasen FADS-1, und FADS-2 und die Lipasen hEL und hLPL. Existieren Modifikationen, die durch den bei Gestationsdiabetes pathogenetisch relativen Insulinmangel beziehungsweise die periphere Insulinresistenz erklärbar sein könnten?

Diesen Fragen soll mit Hilfe einer *in vivo* Untersuchung an 20 freiwilligen Probandinnen nachgegangen werden.

2 Studienaufbau, Material und Methoden

2.1 Studienaufbau

2.1.1 Studienteilnehmer

Die Studienteilnehmerinnen wurden in der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe Innenstadt (Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München; Direktor Prof. Dr. med. Klaus Frieze) rekrutiert. Es wurden nur schwangere Frauen eingeschlossen, bei denen eine elektive *Sectio caesarea* medizinisch indiziert war. 10 gesunde Schwangere dienten als Kontrollgruppe. In die Fallgruppe wurden 11 Schwangere mit Diabetes mellitus eingeschlossen. Die Fallgruppe wurde noch weiter unterteilt in Subpopulationen von 2 Frauen mit Diabetes mellitus Typ I, 1 Frau mit Diabetes mellitus Typ II und 8 Frauen mit Gestationsdiabetes (GDM). Von den 11 Probandinnen in der Diabetes-mellitus-Gruppe wurden nur 10 Probandinnen in die molekulargenetische Testung untersucht. Die 11. Probandin wurde erst kurz vor Abschluss der experimentellen Durchführung eingeschlossen. Dadurch, dass zu diesem Zeitpunkt die molekulargenetische Testung schon abgeschlossen war, konnte die mRNA-Expression der 11. Probandin nicht mehr mit in die Studie aufgenommen werden.

Einschlusskriterien für eine Teilnahme waren

Alter 18-40 Jahre

BMI im jeweiligen Normbereich

Komplikationslose Schwangerschaft bis dato

Ausschlusskriterien waren

- Omega-3- oder Omega-6-Supplementationstherapie in den letzten 4 Wochen der Schwangerschaft

- weitere Grunderkrankungen

In der Vorstudienphase wurde die schriftliche Einverständniserklärung der Schwangeren und des werdenden Vaters nach ausführlicher schriftlicher und mündlicher Aufklärung eingeholt.

2.1.2 ¹³C-Fettsäuren

Jeder Probandin wurden auf einem Stück Brot der Größe 2x1 cm die ¹³C-markierte Fettsäuren ¹³C-Ölsäure, ¹³C-Arachidonsäure und ¹³C-Docosahexaensäure *per os* verabreicht. Die Menge der Fettsäuren wurde an das aktuelle Körpergewicht der Probandin adaptiert, um den unterschiedlichen endogenen Verdünnungen zu begegnen.

Die gleichzeitige Gabe mehrerer Tracer erhöhte weder die Belastung für die Probandin noch den analytischen Aufwand, ermöglichte aber einen direkten intraindividuellen Vergleich des kinetischen Verhaltens der einzelnen Fettsäuren. Weiterhin wurde bei der Auswahl der Fettsäuren darauf geachtet, dass sich diese weder bei der Metabolisierung im Körper noch bei der Analytik gegenseitig stören. Die Probandinnen nahmen folgende Konzentrationen zu sich:

Docosahexaensäure (DHA)	0,1 mg / kg Körpergewicht
Arachidonsäure (AA)	0,2 mg / kg Körpergewicht
Ölsäure (OA)	0,5 mg / kg Körpergewicht

Tabelle 5: Konzentration der aufgenommenen Fettsäuren

In einer analogen Studie konnte gezeigt werden, dass bei einer Ölsäure-Konzentration von 0,5 mg/kg Körpergewicht und einer DHA-Konzentration von 0,1 mg/kg Körpergewicht gute Messergebnisse zu erwarten sind. [76] Falls Messwerte gezeigt hätten, dass der Transfer über die Plazenta so gering war, dass mit dieser Dosis der Anstieg des ^{13}C -Gehaltes in den Fettsäuren im fetalen Plasma unter 0,01 Atom-% gelegen hätte, hätte die Dosis erhöht werden müssen, um den Messfehler im akzeptablen Bereich unter 5 % zu halten.

2.1.3 Klinische Durchführung

Für die Durchführung der Studie konnte der Umstand genutzt werden, dass bei Schwangeren mit GDM oftmals aufgrund von zu erwartenden Geburtskomplikationen von vornherein eine elektive *Sectio caesarea* gewählt wird. Somit ließ sich der zeitliche Ablauf der klinischen Studie praktikabel umsetzen. Nach schriftlicher Zustimmung der Schwangeren wurden am Vorabend der *Sectio caesarea* ein Ernährungsprotokoll sowie anthropometrische Daten erhoben. Eine periphere Venenpunktion zur Gewinnung venösen Blutes aus der V. mediana cubiti wurde durchgeführt. Es wurden 3 ml Blut in ein Li-Heparin-Röhrchen und weitere 5 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen konserviert. Im Li-Heparin-Blut wurden die Blutwerte Glukose, Gesamtcholesterin, HDL, LDL und Triglyzeride erhoben. Das EDTA-Röhrchen wurde für die Bestimmung der Fettsäure-Zusammensetzung aufgearbeitet. Nach der Blutentnahme erhielt die Probandin zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der *Sectio caesarea* (t-12 h) ein 2x1 cm großes Stück Brot mit den ^{13}C -markierte Fettsäuren per os. Nach aktueller wissenschaftlicher Erkenntnis konnte

davon ausgegangen werden, dass eine vollständige Resorption dieser Fettsäuren bis zum nächsten Morgen stattfinden wird [125]. Kurz vor der Geburt wurde von der werdenden Mutter eine venöse Blutprobe von 5 ml entnommen und in einem EDTA-Röhrchen konserviert. Zum Zeitpunkt $t = 0$ kam das Neugeborene durch eine elektive SC auf die Welt. Wenige Minuten später wurde die Plazenta geboren. Diese wurde von der Hebamme auf Vollständigkeit und Anomalien geprüft und dann freigegeben. Nach klinischer Freigabe wurden je 2,5 ml Nabelschnurblut aus der Vena umbilicalis und der Arteria umbilicalis des Nabelschnurstumpfes der Plazenta gewonnen und in EDTA-Röhrchen verwahrt. Danach wurden so schnell wie möglich mehrere 1x1 cm große Stücke Plazentagewebe aus dem zentralen Parenchym der maternalen Seite freipräpariert. Das Plazentagewebe für die Fettsäure-Analyse wurde dreifach in 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen, um Blutreste zu entfernen. Unmittelbar danach wurde es in stickstofffesten Röhrchen in Flüssigstickstoff bei 77 K (-196°C) gefroren, um enzymatische Abbauprozesse zu verhindern. Außerdem wurde weiteres Plazentagewebe zweifach in PBS-Puffer gewaschen und in Polycarbonat-Kunststoff-Röhrchen der Firma Sarstedt verwahrt, die mit 2 ml RNA later zur RNA-Konservierung gefüllt waren. Zuletzt wurde ein 2x2 cm Stück Plazentagewebe im kompletten Querschnitt, welches also auch Amnion von der fetal Seite enthielt, einmal in NaCl gewaschen und in Formalin fixiert.

2.1.4 Ethische Aspekte

2.1.4.1 Verabreichung stabiler Isotope bei Schwangeren

Mit Hilfe der Stablen-Isotopen-Technik war es möglich, mit Einsatz kleinster Tracermengen verschiedenen Fragestellungen im Fettstoffwechsel von schwangeren Frauen und Neugeborenen *in vivo* nachzugehen. Inzwischen belegen zahlreiche Studien, dass der Einsatz von ^{13}C -markierten Fettsäuren keinerlei nachteilige Effekte auf die Gesundheit von Mutter und Kind ausübt [126] [127-129].

2.1.4.2 Aufklärung und Einwilligung der Eltern

Vor Beginn der Studie wurden die werdenden Eltern über Prüfsubstanz, Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie und mögliche Risiken in mündlicher und schriftlicher Form ausreichend aufgeklärt. Bei Bedarf konnten die werdenden Eltern auch während der Studie relevante Informationen erfragen. Darüber hinaus wurden die werdenden Eltern über die Bedingungen und Bestimmungen der gesetzlich vorgeschriebenen Probandenversicherung unterrichtet. Die schriftliche Einverständniserklärung konnte erst

nach erfolgter Aufklärung abgegeben und auf Wunsch der Eltern auch jederzeit wieder zurückgezogen werden.

2.1.4.3 Prüfende Ethik-Kommission

Vor Studienbeginn wurde ein zustimmendes Votum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München eingeholt.

2.2 Material

2.2.1 Geräte

Geräte	Hersteller
Analytische Wage, R-200 D	Sartorius, Göttingen
Bördelkappen-Öffnungszange	Hewlett Packard, Böblingen
Zentrifugengläschen	Schmitz, Munich
Zentrifuge, Universal 30 F	Hettrich, Tuttlingen
Bördelkappen-Verschließzange	Hewlett Packard, Böblingen
Rotina 38R	Hettrich, Tuttlingen
Membran Vakuumpumpe, MZ 2c	Vacuubrand, Wertheim
Heizblock, Typ 2102	Bachhofer, Reutlingen
Ultraturax, DIAx 100 + 8G/100	Heidolph Schwabach
Pipette 10-100µl, 50-250µl, 200-1000µl, 500-2500 µl	Eppendorf, Wesseling-Berzdorf
Rotationsverdampfer, R-114	Büchi, Flawil, Switzerland
Kammer für die Dünnschichtchromatographie	Desega, Heidelberg
Thermoplatte, S	Desega, Heidelberg
Ultraschallbad, Sonorex Super	Badelin, Berlin
Ultraviolett-Lampe	Benda, Wiesloch
Vortexer, VF 2	IKA, Heitersheim
Wasserbad, B-480	Büchi, Flawil, Switzerland
Autosampler, A200S	Carlo Ebra Instruments
Kapillarsäule, BPX-70, 60m, Diameter 0.32 mm	SGE, Weiterstadt
Film der Dicke 0.25	
Gas Chromatograph, 5890, Series 2	Hewlett Packard, Böblingen
Ultraspex 300	Pharmacia Biotech, Freiburg
iCycler mit 96 x 0,2 ml Reaktionsmodulen	Biorad, München
Zentrifuge Rotanta 460R	Hettich Zentrifugen, Buckinghamshire

2.2.2 Chemikalien

Chemikalien	Hersteller	Qualität
Aqua ad iniectabilia	Braun AG	ad iniectabilia
Butylhydroxytoluol (BHT)	Fluka, Neu-Ulm	99% GC
2,7-Dichlorfluorescein	Merck, Darmstadt	zur Analyse
2-Propanol	Merck, Darmstadt	zur Analyse
Essigsäure	Merck, Darmstadt	zur Analyse
Chloroform	Merck, Darmstadt	extra rein
Diisopropylether	Merck, Darmstadt	zur Analyse
Ethanol	Merck, Darmstadt	zur Analyse
Methanol	Merck, Darmstadt	zur Analyse
Methanolisches HCL (3N)	Sigma-Aldrich, Steinheim	zur Analyse
n-Heptan	Merck, Darmstadt	zur Analyse
n-Hexan	Merck, Darmstadt	LiChrosolv gradient grade
Kaliumchlorid	Merck, Darmstadt	zur Analyse
Natriumcarbonat	Merck, Darmstadt	wasserfrei zur Analyse
Natriumhydrogencarbonat	Merck, Darmstadt	zur Analyse
Natriumsulfat	Merck, Darmstadt	wasserfrei zur Analyse

2.2.3 Materialien für die PCR

Pipettenspitzen SafeSeal (2,5; 20; 100; 200; 1000µl)	Biozym, Oldendorf
Pipettenspitzen	Eppendorf, Hamburg
QIAcube Rotor Adapters	QIAGEN, Hilden
RNeasy Mini Spin Columns	QIAGEN, Hilden
QIAshredder Spin Columns	QIAGEN, Hilden
Collection tubes (1,5ml)	Sarstedt, Nümbrecht
Safe-lock tubes (1,5ml, 2ml)	Eppendorf, Hamburg
QIAcube Pipettenspitzen	QIAGEN, Hilden
PCR-Reaktionsgefäße (0,2ml)	Eppendorf, Hamburg
DPBS	GIBCO Invitrogen, Karlsruhe
Ethanol 100%	Roth, Karlsruhe
Buffer RLT	QIAGEN, Hilden
Buffer RW1	QIAGEN, Hilden
Buffer RPE	QIAGEN, Hilden
RNAse-Free Water	QIAGEN, Hilden
gDNA Wipeout Buffer	QIAGEN, Hilden
Quantiscript Reverse Transcriptase	QIAGEN, Hilden
PCR Puffer	Roche, Mannheim
Taq-Polymerase (500Units 5U/µl)	Roche, Mannheim
SYBR green supermix	Biorad, München

96-well 200 µl Dünnschicht-PCR-Platten	Biorad, München
96-well Microseal-Klebefolien	Biorad, München
RNeasy Mni Kit	QIAgen, Hilden
DEPC treated Water pyrogen-free (Certified DNase/RNase free)	Invitrogen, Carlsbad
Safe-Lock Tubes 1,5 ml	Eppendorf, Hamburg

2.3 Fettsäure-Analyse

2.3.1 Aufarbeitung der Proben

Das abgenommene EDTA Blut wurde für 7 Minuten zentrifugiert (2300 U/min). Das Plasma wurde abpipettiert und in Eppendorf-Röhrchen bis zur Analyse bei -80°C eingefroren.

Die Erythrozyten wurden 3x mit der 10fachen Menge an 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen. Nach jedem Waschvorgang wurde erneut unter oben genannten Voraussetzungen zentrifugiert. Die Waschlösung wurde nach der Zentrifugation abpipettiert und verworfen. Zu den Erythrozyten wurden anschließend 300 µl destilliertes Wasser hinzugegeben und die Lösung für 10 Minuten stengelassen, sodass die Erythrozyten hämolysieren konnten. Nach der Hämolyse wurden in einem letzten Schritt unter langsamem Schütteln 4 ml Isopropanol mit BHT als Antioxidans (50mg/l) in 100 µl Schritten vorsichtig zu den hämolysierten Erythrozyten hinzugegeben, sodass es zu keinen Verklumpungen kam. Die aufbereiteten Erythrozyten wurden bis zur Analyse bei -80°C tiefgefroren.

2.3.2 Fettsäure-Zusammensetzung im Blutplasma

Zubereitung des Internen Standards

In zahlreichen Ansätzen sind Interne Standards für Fettsäurebestimmungen beschrieben. Die Methylester der Fettsäuren C15:0, C17:0, C19:0, C23:0 oder C24:1 sind für die Quantifizierung von langkettigen Fettsäuren (größer C14:0) etabliert. Der Zusatz eines einzelnen Standards verursacht keine Diskrimination der individuellen Fettsäuren während der Extraktion, Derivatisierung und Flüssiggaschromatographie. Normalerweise eluiert der Großteil dieser Fettsäuren, die in biologischen Proben vorkommen, mit anderen Fettsäuren in der Gaschromatographie, oder er ist schwer löslich. Der C15:0 Methylester jedoch stellt eine geeignete Auswahl zur Verwendung als Internen Standard dar. Er zeigt gute Löslichkeitseigenschaften in polaren Lösungsmitteln, kommt in

biologischem Gewebe nur in unbedeutenden Mengen vor (<1%) und verdampft nicht während der Probenaufbereitung, obwohl die Fettsäure eher kurzkettig ist. Zur Quantifizierung der Fettsäuren in PL, NEFA, TG und CE wurde interner Standard mit definierten Konzentrationen von Phosphatidylcholin-Depentadecanol, Docosapentaensäure, Tripentadecanoin und Cholesterolpentadecaensäure benutzt. Definierte Mengen (siehe Tabelle 6) wurden in 50 ml Methanol: Chloroform gelöst (35ml: 15 ml).

250 µl der Mixtur (entsprechen 0,025 µg Pentadecansäure) wurden zu Beginn jeder Extraktion zur Lösung hinzugefügt. Die Konzentrationen (Flüssigmasse) der individuellen Fettsäuren wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Fettsäure X [mg/ml]} = \frac{\text{Fläche des Fettsäurepeaks X} \times \text{Standard [mg]}}{\text{Standardfläche} \times \text{Plazentaprobengewicht}}$$

Die proportionalen Anteile der Fettsäuren (Flüssigmasse) wurden wie folgt berechnet:

$$\text{Fettsäure X [\%]} = \frac{\text{Fettsäure X [mg/g]}}{\text{totaler Fettsäuregehalt [mg/g]}} \times 100$$

Die Extraktion der Lipide erfolgte nach einer Methode von Folch et al. (Folch et al. 1957), die Lipidklassentrennung nach einer Methode von Carnielli et al. (Carnielli et al. 1996a).

Zur Analyse der Fettsäuren im Blutplasma wurden 250 µl Plasma benötigt. Dieses wurde in ein Schliffglasröhrchen eingewogen. Dazu hinzu wurde mit einer abimed-Pipette 100 µl interner Standard pipettiert. Der interne Standard war in 200 ml Methanol Chloroform 35/15 + BHT (100 mg/50ml) gelöst und enthielt unten stehende Bestandteile.

Phospholipide (PL)	29,15 mg
Freie Fettsäuren (NEFA)	20,25 mg
Triglyceride (TG)	20,86 mg
Cholesterolester (CE)	49,81 mg

Tabelle 6: Bestandteile des internen Standards

Die Konzentration an C15:0 im internen Standard betrug 10 µg/100 µl.

Zu Plasma und internem Standard wurden 10 ml Chloroform/Methanol im Mischungsverhältnis 2:1 hinzugegeben.

Zur Extraktion der Lipide aus dem Plasma benötigte man drei Extraktionsschritte. In jedem Extraktionsschritt wurden 2,5 ml destilliertes Wasser hinzugefügt, 15 min kontinuierlich leicht geschüttelt und anschließend 6 Minuten bei 2200 rpm und 25°C zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde die obere polare Phase abpipettiert und die

Probe mit ca. 2,5 ml Methanol bis auf 10 ml Gesamtvolumen aufgefüllt. Nach dreimaliger Wiederholung dieser Extraktionsschritte wurde die zuletzt übrig gebliebene unpolare Phase in einen Spitzkolben pipettiert. Im Rotator wurde die Probe bei 35°C mit Hilfe eines Wasserstrahlpumpen-Vakuums so lange rotiert, bis die Flüssigkeit völlig verdampft war. In der Zwischenzeit wurde das sogenannte Carnielli-Laufmittel mit den Lösungsmitteln Heptan: Diisopropylether: Eisessig (60 ml: 40 ml: 3 ml) für die Dünnschichtgaschromatographie angemischt und zur Sättigung in die Kammer gegeben. Nach Abrotation der Probe wurde das übrig gebliebene eingedampfte Extrakt in 400 µl Chloroform / Methanol 1:1 aufgenommen. Nachdem 30 sec geschüttelt wurde, konnte das Extrakt in 100 µl Schritten auf eine DC-Platte (25 xy) aufgetragen werden. Die Auftragstellen wurden vorher markiert, sie waren 1,5 cm vom unteren Rand entfernt und entsprachen pro Probe einem 2 cm langen Streifen. Nach jedem Auftragschritt wurde gewartet bis das Extrakt vollständig in die DC-Platte eingetrocknet war. Nachdem die gesamten 400 µl in die DC-Platte aufgenommen wurden, konnte 2x mit je 100 µl reinem Chloroform nachgewaschen werden. Die vollständig getrocknete DC-Platte wurde in die gesättigte Laufkammer gegeben und entwickelte bis das Laufmittel ca. 1 cm unter dem oberen Rand angekommen war. Dies dauerte ca. 45 Minuten. Nach vollständiger Entwicklung der Platte wurde sie 5 Minuten unter dem Abzug getrocknet. Zur Visualisierung der Lipidfraktionen wurde die Platte mit 2'7' Dichlorfluorescein besprüht. Die einzelnen Fraktionen wurden mittels einer UV-Lampe bei 366 nm Wellenlänge sichtbargemacht und mit einem Spatel gekennzeichnet. Aufgrund der chemischen Eigenschaften und eines bekannten Standards, der neben die Proben auf die Laufplatte aufgetragen wurde, konnte nachvollzogen werden, dass die Phospholipidfraktion auf der Auftragstelle stehen bleiben, die freien Fettsäuren etwas weiter wandern, die Triglyceride noch weiterwandern und die Cholesterolester die größte Wegstrecke zurücklegen. Die markierten Fraktionen wurden mit einem Spatel ausgekratzt und das ausgekratzte Kieselgel wurde mit einem Trichter in ein 4 ml Braunglas überführt. Im nächsten Schritt wurden die einzelnen Lipidfraktionen in einer säurekatalysierten Veresterung zu Methylestern verestert. Dazu wurde zum Extrakt 1,5 ml methanolisches HCl hinzugegeben, das Fläschchen gut verschlossen, geschüttelt und bei 85°C für 45 min im Thermoblock gekocht. Danach wurden die Proben für ca. 30 min zum Abkühlen stehen gelassen, dann wurden die Gläschen geöffnet und mit einer Puffermischung gepuffert. Der Puffer bestand aus Natriumsulfat / Natriumhydrogencarbonat / Natriumcarbonat im Verhältnis 2:2:1. Der Puffer wurde solange mit einem Spatel zur Probe hinzugegeben bis

die Probe nicht mehr sprudelte. Nach Neutralisation der Säure durch den Puffer konnte die Extraktion der Methylester stattfinden. Um diese Extraktion durchzuführen, wurde 1 ml Hexan zur Probe hinzugegeben, gut geschüttelt und dann für 7 min bei 2300 rpm zentrifugiert. Die obere unpolare Phase wurde in ein 2 ml Braungläschen überführt und unter Stickstoff eingedampft. Die übriggebliebene polare Phase wurde ein weiteres Mal mit 1 ml Hexan aufgefüllt, gevortext und bei oben angegebenen Konditionen wieder zentrifugiert. Die unpolare Phase wurde wieder abgenommen und noch einmal vollständig unter Stickstoff eingedampft. Das eingedampfte Extrakt wurde zuletzt in 50 µl Hexan mit BHT (2 g/l) aufgenommen, gut geschüttelt und in ein Microvial überführt. Das Vial wurde in ein 2 ml Braunglas gegeben und dieses mit einer Bördelkappe gut verschlossen. Die Proben wurden bis zum Einspritzen in den Gaschromatographen bei -20°C eingefroren.

2.3.3 Fettsäure-Zusammensetzung der Erythrozyten

Die Erythrozyten, die aus dem EDTA Blut extrahiert wurden, wurden aufgetaut und in ein 25 ml Zentrifugenröhrchen vollständig überführt. Ein interner Standard von 100 µl C15 wurde hinzugegeben, der wie folgt charakterisiert war: Zu 100 ml Isopropanol / Chloroform, welches in einem Verhältnis von 3 Teilen zu 2 Teilen gemischt war, wurden 15 mg Phosphatidylcholin 15:0 hinzugegeben. Unter ständigem Mischen wurden langsam 6 ml Isopropanol und 4 ml Chloroform hinzupipettiert. Die Probe wurde 10 min bei wiederholtem Schütteln stehen gelassen. Danach wurde sie für 10 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Überstand ließ sich durch einen mit Chloroform angefeuchteten Filter in einen Spitzkolben filtrieren. In einem 2. Extraktionsschritt wurde zu der übrig gebliebenen unteren Phase 4 ml Chloroform unter ständigem Schütteln hinzugegeben. Nach 10 minütiger Wartezeit wurde die gesamte Probe nun über den Filter in den Spitzkolben filtriert. Der Filter wurde 2x mit Chloroform nachgespült. Nach der Extraktion wurde die Probe in einem Wasserbad bei 35°C mittels eines Wasserstrahlpumpen-Vakuums abrotiert. Während des Abrotierens der Probe konnte das Erythrozyten-Laufmittel gemischt und in die Laufkammer zur Sättigung gegeben werden. Das Laufmittel bestand aus 73 ml Chloroform; 27 ml Methanol; 2,2 ml NH₃ und 2,8 ml destilliertem Wasser. Nachdem die Probe abrotiert und die komplette Flüssigkeit verdampft war, wurde das eingedampfte Extrakt in 400 µl Chloroform/Methanol 1:1 aufgenommen und gut geschüttelt. In 4x 100 µl Schritten wurde das Extrakt auf die DC-Platte (60 xy) aufgetragen, zwischen jedem Auftragschritt wurde so lange gewartet, bis

das Extrakt vollständig in die DC-Platte eingetrocknet war. Ein Standard von 10 µl Phosphatidyl-Ethanolamin und 10 µl Phosphatidyl-Cholin wurde ebenfalls auf die Kieselgelplatte aufgetragen. Die Auftragstellen befanden sich immer jeweils 1,5 cm vom unteren Rand entfernt und hatten eine Größe von 2 cm pro Probe. Nachdem das Extrakt vollständig in die DC-Kieselgelplatte eingetrocknet war, wurde die Auftragstelle 2x mit Chloroform nachgewaschen. Anschließend wurde die DC-Platte zum Entwickeln in die Laufkammer gegeben und so lange entwickelt bis das Laufmittel ca. 1 cm unter dem oberen Rand angelangt war. Dies dauerte ca. 90 Minuten. Nachdem die Platte vollständig entwickelt war, konnte man sie aus der Laufkammer entnehmen und an der Zimmerluft trocknen. Anschließend wurde die DC-Platte zur Visualisierung der Lipid-Fraktionen mit 2,7 Dichlorfluorescein besprüht. Die Lipidfraktionen konnten so mittels einer UV-Lampe bei 366 nm Wellenlänge visualisiert und mit einem Spatel leicht eingekreist werden. Im nächsten Schritt wurden die Fraktionen mit einem Spatel ausgekratzt und mit Hilfe eines Trichters in ein 4 ml Braungleis überführt. Das Umestern, die Extraktion der Methylester und die anschließende Aufnahme des Extrakts in ein Microvial fanden analog wie bei den Plasma-Phospholipiden statt und werden hier nicht nochmal aufgezählt.

2.3.4 Fettsäure-Zusammensetzung im Plazentagewebe

2.3.4.1 Aufarbeitung des Plazentagewebes

Das direkt bei der Schnittentbindung frisch gewonnene Plazentagewebe wurde, wie oben bei der klinischen Durchführung der Studie beschrieben, nach dreimaliger Aufreinigung mit physiologischer Kochsalzlösung in stickstoffeste Röhrchen gegeben und in Flüssigstickstoff tiefgefroren. Zeitnah wurden die Proben dann bei -85°C im Gefrierschrank tiefgefroren.

Die Analyse von Fettsäuren im biologischen Gewebe besteht im wesentlichen aus drei Schritten, der Extraktion von Lipidfraktionen in ein organisches Lösungsmittel, der säurekatalysierten Derivatisierung zur Gewinnung volatiler Fettsäuremethylester und der Quantifizierung der einzelnen Fettsäuremethylester durch Flammenionisationsgaschromatographie. In der Methode nach Klingler et al. (2003) werden diese Schritte durchgeführt. Diese Methode beruht auf einer Modifikation der oben beschriebenen Methode von Folch et al. zur Gewinnung von Fettsäuremethylestern aus humanem Blutplasma. Das Plazentagewebe wurde zur Vorbereitung mit 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen, und von etwaigen Blutresten bzw. Bindehautgewebe oder sichtbaren Blutgefäßen entfernt. Mit einer Feinwaage wurden zwischen 0,3 – 0,5 g

Gewebe abgewogen und 250 µl interner Standard hinzugegeben. Die Probe wurde in 3 ml Chloroform:Methanol + 5 g/l Butylhydroxytoluol (BHT) im Verhältnis 2:1 überführt und mit einem Ultraturax- Metallklingen-Homogenisator homogenisiert. Anschließend wurde das Homogenisat für 20 min auf 35°C erhitzt, durch einen Glasfaserfilter filtriert und 4 ml Kaliumchloridlösung (0,1 M) hinzugegeben. Nach vorsichtigem Schütteln wurden die Proben bei 2300 rpm und 10°C für 30 min zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde die wässrige Phase verworfen und die organische Phase, welche die Lipide enthält, durch einen Glasfaserfilter mit Natriumsulfat in einen Spitzkolben filtriert. Das Lösungsmittel wurde mittels einer Vakuumpumpe unter Unterdruck abgedampft. Die verbliebenen Lipide wurden in 400 µl Chloroform/Methanol im Verhältnis 1:1 gelöst und vorsichtig auf eine Dünnschicht-Kieselgelplatte aufgetragen. Durch Verwendung eines Laufmittels aus den Lösungsmitteln Heptan: Diisopropylether: Eisessig (60 ml: 40 ml: 3 ml) konnten die einzelnen Lipidfraktionen in Phospholipide, nicht veresterte Fettsäuren, Triglyceride und Cholesterolester separiert werden. Nach Visualisierung der einzelnen Komponenten mit dem Fluoreszenzfarbstoff 2'7' Dichlorfluorescein konnten die Banden mit den separierten Lipidfraktionen von der Kieselgelplatte ausgekratzt und in 4 ml Glasröhrchen mit Teflon abgedichteten Verschlusskappen überführt werden. Die Reaktion zur Gewinnung von Fettsäuremethylestern fand als säurekatalysierte Veresterung mit methanolischem HCl (3M) bei 85°C für 45 min in verschlossenen Braungläsern statt. Nach Neutralisation mit Natriumsulfat: Natriumhydrogencarbonat: Natriumcarbonat im Verhältnis 2:2:1 wurde 1 ml Hexan hinzugegeben und bei 2300 rpm für 3 min zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde die Hexanschicht in ein anderes Glasfläschchen überführt, die Extraktion ein weiteres Mal wiederholt und das Extrakt unter einem Stickstoffstrom eingedampft. Im letzten Schritt wurde das verdampfte Extrakt in 50 µl Hexan mit BHT (2 g/l) aufgenommen und in einen Mikroeinsatz überführt. Die Quantifizierung der Methylester wurde mit einem Kapillar-Gaschromatographen der Marke Hewlet-Packard 5890 Series 2 durchgeführt, welcher mit einer silikon-ummantelten polaren Cyanopropyl-Säule mit einem inneren Durchmesser von 60 m x 0,32 mm ausgestattet ist. (BPX-70). Die Fettsäurebestimmung wurde unter einem Säulendruck von 1,3 bar und einer Initialtemperatur von 130°C gestartet, gefolgt von einer Temperaturerhöhung von 3°C/min bis auf 180°C und einer weiteren Temperaturerhöhung um 4°C/min bis auf 220°C.

2.4 Tracer-Messungen

Anhand der Gaschromatographie-Verbrennungs-Isotopen-Verhältnis-Massenspektrometrie (GC-C-IR-MS) konnten der ^{13}C - ^{12}C -Quotienten der Proben berechnet und anhand dessen der ^{13}C atom percent excess (APE) kalkuliert werden, welcher die ^{13}C -Anreicherung, also den prozentualen Anteil von ^{13}C am Gesamtkohlenstoff, darstellt. [130] Die Konzentration ($\mu\text{mol } ^{13}\text{C}/\text{l}$) der markierten FS wurde berechnet, indem die absolute Konzentration der FA mit ihrem ^{13}C -APE multipliziert wurde. Die Anreicherungswerte (APE) beinhalten den ^{13}C - ^{12}C -Quotienten jeder markierten FS in den Proben, für die Berechnung der Tracer-Konzentrationen sollte jedoch die Anreicherung von ^{13}C mit der Konzentration der korrespondierenden FS in der Probe multipliziert werden.

2.5 Molekulargenetik

2.5.1 Gewinnung der Plazentaprobe

Nach der Entbindung des Säuglings und der klinischen Freigabe der Plazenta wurden so schnell wie möglich mehrere 1x1 cm große Stücke Plazentagewebe aus dem zentralen Parenchym der maternalen Seite freipräpariert. Das Plazentagewebe für die molekulargenetische experimentelle Weiterverarbeitung wurde zweifach in PBS-Puffer gewaschen und in Polycarbonat-Kunststoff-Röhrchen der Firma Sarstedt verwahrt, die mit 2 ml RNA *later* zur RNA-Konservierung gefüllt waren. Die RNA *later*-Lösung der Firma Applied Biosystems ist eine Stabilisationslösung, die RNA aus frisch gewonnenen Geweben stabilisiert und vor Degradation schützt. Das stabilisierte Plazentagewebe wurde daraufhin bei +7°C im Kühlschrank verwahrt. Nach 24-stündiger Lagerung wurde die RNA *later*-Lösung herauspipettiert und das Gewebe bis zur weiteren Verwendung bei -80°C tiefgefroren.

2.5.2 mRNA-Extraktion aus Plazentagewebe

Für die PCR-Diagnostik musste zuerst mRNA aus dem Plazentagewebe extrahiert werden. Hierfür wurde ein mRNA-Gewebeaufreinigungs-Kit, *QIA RNeasy Mini Kit* (Qiagen, Hilden, Deutschland), verwendet. Die durchgeführten Schritte erfolgten nach Angaben des Herstellers. Jeweils etwa 30 mg (\pm 5 mg) Plazentagewebe wurde mittels einer

Feinwaage abgewogen und mit einem sterilen Holzstäbchen in ein 2 ml Eppendorfgefäß platziert. β -Mercaptoethanol und RLT-Puffer wurden im Verhältnis 1:100 zu der Probe hinzugefügt, im Falle dieser Studie waren jeweils 15 μ l β -Mercaptoethanol und 1,5 ml RLT-Puffer. Das Gemisch wurde mit einem Ultrathurax-Homogenisator für mindestens 30 Sekunden bei höchster Geschwindigkeit homogenisiert. Der Überstand wurde in ein neues 2 ml Eppendorfgefäß überführt. Mithilfe des QIAcube-Spinsäulen-Extraktionsautomaten der Firma QIAGEN wurde die Extraktion der mRNA durch eine automatisierte Aufbereitungsmethode nach Standard-Protokoll durchgeführt. Die Probenvorbereitung lief nach denselben Schritten wie beim manuellen Verfahren ab. Dies bedeutete, dass Lyse, Bindung, Waschen und Elution nach Beladen des QIAcubes mit dem entsprechenden Spinsäulen-Kit automatisiert durchgeführt wurden.

2.5.3 Photometrische Kontrolle der RNA-Extraktion

Nach der Aufreinigung wurde bei allen Proben der RNA-Gehalt photometrisch quantifiziert. Ein Photometer bestimmte bei den Wellenlängen 260 nm, 280 nm und 230 nm die Extinktion (Optische Dichte) der Proben. Die Konzentration der RNA in der Probe wurde vom Photometer automatisch berechnet und ein Quotient aus $E_{260\text{ nm}}/E_{280\text{ nm}}$ sowie ein Quotient aus $E_{260\text{ nm}}/E_{230\text{ nm}}$ ermittelt. Aus den Quotienten der $E_{260\text{ nm}}/E_{280\text{ nm}}$ und $E_{260\text{ nm}}/E_{230\text{ nm}}$ konnte der RNA-Reinheitsgrad der Proben ermittelt werden, der optimalerweise bei $\geq 1,8$ liegen sollte.

Pro Extraktion wurden 1-5 μ g RNA/ ml Blut gewonnen. Die Reaktionsgefäße wurden bis zur cDNA-Synthese auf Trockeneis gelegt oder bei -80°C bis zur weiteren Verarbeitung gelagert.

2.5.4 cDNA-Synthese

Da bei einer RT-PCR keine Ribonukleinsäure eingesetzt, sondern nur Desoxyribonukleinsäure amplifiziert werden kann, musste im nächsten Schritt die aufgereinigte mRNA in cDNA umgewandelt werden. cDNA ist die komplementäre Desoxyribonukleinsäure zur mRNA, die durch Reverse Transkription aus der einzel- oder doppelsträngigen RNA synthetisiert werden kann. cDNA unterscheidet sich von genomischer DNA dadurch, dass sie ausschließlich aus Exons (von englisch *expressed region*) besteht, also aus den Teilen der genomischen DNA, die nach dem Spleißen der

RNA erhalten bleiben. Die Reverse Transkription wurde mit Hilfe des QuantiTect Reverse Transkriptons-Kits der Firma Qiagen durchgeführt. Der gesamte Prozess wurde auf Trockeneis durchgeführt. Zur Reversen Transkription wurde 1 µg mRNA eingesetzt. Das Gesamtvolumen des fertigen cDNA-Eluats betrug 20 µl und setzte sich aus folgenden Anteilen zusammen:

x mRNA
wipeout Buffer
Primer-Mix
Reverse Transkriptase

Tabelle 7: Bestandteile des Reverse-Transkriptase-Eluats

Zum Ausschluss jeglicher Kontamination mit fremder genomischer DNA wurde parallel zu jeder RNA-Probe eine sogenannte RT- Kontrolle eingesetzt, ein Reaktionsgemisch aus allen oben genannten Bestandteilen außer des Enzyms Reverse Transkriptase. Da ohne das Enzym auch keine Transkription ausgeführt werden kann, sollte dieses Eluat also DNA-frei sein und bei einer RT-PCR keine messbare Amplifizierung stattfinden.

Das Prinzip des Reverse Transkriptons-Kits beruht darauf, dass in einem ersten Schritt mithilfe eines sogenannten *wipeout-buffers* verbliebene genomische DNA aus dem Eluat eliminiert wurde. Durch die Zugabe von dNTPs, Puffer, eines Reverse Transkriptase Primer-Mixes und der Reversen Transkriptase selbst wurde die eigentliche Reverse Transkription in Gang gesetzt und innerhalb von 20 Minuten die mRNA in cDNA umgeschrieben.

2.5.5 Real-time Polymerase-Kettenreaktion

Eine Polymerase-Kettenreaktion ist eine *in-vitro*-Methode zur Vervielfältigung von DNA.

Die sogenannte Real-Time PCR ist ein Verfahren, welches die Messung und Detektion des amplifizierten Produktes in Echtzeit, also während der Amplifikation selbst, erlaubt. Bei einer konventionellen PCR wird das amplifizierte Produkt in einer Endpunktanalyse bestimmt. Dies geschieht, indem die DNA nach der abgeschlossenen PCR auf ein Agarose-Gel aufgetragen und die Größe der Banden bestimmt werden. Die Vorteile der Echtzeit-Analyse in einer RT-PCR werden dadurch möglich, dass in das Reaktionsgemisch ein Fluoreszenzmolekül hinzugegeben wird, welches eine Zunahme der DNA-Menge durch eine proportionale Zunahme des Fluoreszenzsignals anzeigt. Die fluoreszierenden Reagenzien, die für dieses Verfahren eingesetzt werden, enthalten DNA-bindende

Farbstoffe und fluoreszenzmarkierte sequenzspezifische Primer. Innerhalb eines thermischen Cyclers, der mit Fluoreszenz-Erkennungsmodulen ausgestattet ist, ist es möglich, die steigende Fluoreszenzintensität während einer Amplifikation darzustellen. Die gemessene Fluoreszenz spiegelt die Menge des amplifizierten Produkts pro Zyklus wider. Die PCR wurde nach Anweisungen des Herstellers ausgeführt. Es wurde folgender 20 µl Ansatz hergestellt:

10 µl SYBR green supermix
 5 µl deionisiertes H₂O
 2 µl forward-Primer
 2 µl reverse-Primer

Tabelle 8: Bestandteile des PCR-Ansatzes

19 µl dieser Lösung und 1 µl der cDNA-Aufreinigung wurden jeweils in ein well einer 96-well-PCR-Platte pipettiert. Die normalen Testproben wurden in triplets pipettiert, was bedeutet, dass jede Probe dreimal pipettiert und gemessen wurde, um Kontaminationsfehler auszuschließen. Neben den zu interessierenden Proben wurde zusätzlich eine Negativkontrolle hergestellt, welcher 1 µl deionisiertes Wasser anstatt der cDNA-Aufreinigung zugegeben wurde. Außerdem wurden auf jede 96-well-Platte noch 4 reine H₂O-Proben aufgetragen, um Kontaminationen zu detektieren. Die Sequenzen und Temperaturoptima der Primer, die in der real-time PCR benutzt wurden, sind in folgender Tabelle aufgelistet.

Primer-Name	Richtung	Sequenz (5' – 3')	Temp/°C
FATP-1	rev	5'-AGA ACT CCC CGA TTT GGC-3'	55.3
FATP-1	fwd	5'-AGG TGG TCC AGT ACA TCG GG-3'	55.3
FATP-4	rev	5'-CGT TCT CAC CTT TCC AGC G-3'	64
FATP-4	fwd	5'-GCC GCA TCA TCC AGA AAG AC-3'	64
H-FABP	rev	5'-TCA TCT GCT GTT GTC TCA TCG-3'	53
H-FABP	fwd	5'-TTT TGC TAC CAG GCA GGT G-3'	53
β2micro	rev	5'-TTG GGC TGT GAC AAA GTC AC-3'	53
β2micro	fwd	5'-AGG TTT ACT CAC GTC ATC CAG-3'	53
FAT/CD 36	rev	5'-CCT TGG ATG GAA GAA CGA ATC-3'	53
FAT/CD 36	fwd	5'-GGA AAG TCA CTG CGA CAT GA-3'	53

FABPpm/GOT 2	rev	5'-TCC TAC ACG CTC ACC ATA TAA GC-3'	53
FABPpm/GOT 2	fwd	5'-GGA AGG AAA TAG CAA CAG TGG-3'	53
FATP-6	rev	5'-AGT GTC TCC AGT ACG GTC CC-3'	55.3
FATP-6	fwd	5'-GAA ATG AGC AGG GTT GGT GTA T-3'	55.3
adipoFABP	rev	5'-CCT TTC ATG ACG CAT TCC AC-3'	59.5
adipoFABP	fwd	5'-AGA TGA CAG GAA AGT CAA GAG CA-3'	59.5
B-FABP	rev	5'-TCC AGG CTA ACA ACA GAG TTA CAG-3'	50
B-FABP	fwd	5'-GCT CTA GGC GTG GGC TTT-3'	50
GAPDH	rev	5'-GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC-3'	57
GAPDH	fwd	5'-GAA GGT GAA GGT CGG AGT C-3'	57
FADS1	rev	5'-TCA CCC ACA CAA ACC AGT TG-3'	55.3
FADS1	fwd	5'-GGA CTT GGC CTG GAT GAT TA-3'	55.3
FADS2	rev	5'-GCC GTA GAA AGG GAT GTA GGT-3'	55.3
FADS2	fwd	5'-GCT GCT CAT CCC CAT GTA TT-3'	55.3
TATA	rev	5'-CCG TGG TTC GTG GCT CTC T-3'	57
TATA	fwd	5'-GCC CGA AAC GCC GAA TAT-3'	57
hEL	rev	5'-TGATCCCAAGACATCGTTGA-3'	62.3
hEL	fwd	5'-GTATGCAGGCAACTTCGTGA-3'	62.3
hLPL	rev	5'-CTGCAAATGAGACACTTTCTC-3'	62.3
hLPL	fwd	5'-GAGATTTCTCTGTATGGCACC-3'	62.3

Tabelle 9: Oligonukleotidprimer-Sequenzen aller verwendeten Primer

Die weiteren Schritte wurden mit Hilfe eines iCyclers nach Protokoll des Herstellers durchgeführt. Die 96-well-Platte wurde mit einem microseal-Film verschlossen, in einer speziellen Zentrifuge kurz zentrifugiert und anschließend in den iCycler gestellt.

Die PCR-Bedingungen waren wie folgt:

- Denaturierung bei 95°C für 5 Minuten
- 38 Zyklen Amplifikation bei
 - 95°C für 30 Sekunden
 - 53°C für 30 Sekunden
 - 72°C für 45 Sekunden
- Erhitzen auf 72°C für 1 Minute, 95°C für 1 Minute, 55°C für 30 Sekunden

- Start der Schmelzkurvenanalyse durch Erhitzen der Lösung auf 95°C mit einem Temperaturanstieg von 0,5°C pro Sekunde (insgesamt ca. 10 Minuten)
- Abkühlung auf 18°C

Während des Erhitzens wurden durch den iCycler die Temperatur bei Fluoreszenzänderung und damit die Abdiffusionstemperatur der Sonden vom PCR-Produkt ermittelt. Diese spezifische Abdiffusionstemperatur wurde von der Biorad iCycler Software (Version 3.0) für jede Probe in eine Schmelzkurve umgerechnet. Die Ergebnisse und Schmelzkurven wurden anschließend analysiert.

2.6 Immunhistochemische Färbungen von FATP-1 und FATP-4

Mit der Methode der Immunhistochemie (IHC) konnten die Fettsäuretransportproteine FATP-1 und FATP-4 mit Hilfe von Antikörpern im Plazentagewebe sichtbar gemacht werden. Es wurde das in Paraffin eingebettete Plazentagewebe von 10 gesunden Schwangeren und 10 Schwangeren mit Diabetes mellitus untersucht. Das Plazentamaterial wurde im Pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität zu München (Direktor: Prof. Dr. med. Thomas Kirchner) bearbeitet und mit spezifischen Antikörpern gefärbt. Das Prinzip der Färbung beruht auf der Affinität der Antikörper spezifisch für das interessierende Protein im Sinne einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Für die Detektion von FATP-1 wurde der Antikörper der Firma R&D Systems (Cat. No.: MAB3304) verwendet. Es erfolgte zunächst eine Hitzevorbehandlung mit Antigen Retrieval AR (Fa.DCS, Cat.No. HK057-5KE). Die Inkubationszeit betrug 60 min RT mit einer Verdünnung von 1:100. Zur Detektion wurde das Vectastain ABC-Kit Elite Universal (Fa.Vector, Cat.No. PK-6200) mit dem Chromogen DAB+ (Fa.Dako, Cat.No. K3468) sowie einer Gegenfärbung mit Hematoxylin Gill's Formula (Fa.Vector, Cat. No. H-3401) verwendet.

Für die Detektion von FATP-4 wurde der Antikörper der Firma PTG (Cat. No.: 11013-1-AP) benutzt. Es erfolgte zunächst eine Hitzevorbehandlung mit Epitope Retrieval Solution pH8 (Fa.Novocastra, Cat.No. RE7116). Die Inkubationszeit betrug 60 min RT mit einer Verdünnung von 1:80. Zur Detektion wurde das Vectastain ABC-Kit Elite Universal (Fa.Vector, Cat.No. PK-6200) mit dem Chromogen DAB+ (Fa.Dako, Cat.No. K3468) sowie einer Gegenfärbung mit Hematoxylin Gills Formula (Fa.Vector, Cat. No. H-3401) verwendet. Die Auswertung der immunhistochemischen Färbungen erfolgte

semiquantitativ mit einem Lichtmikroskop. Die entsprechenden Kategorisierungen sind unten dargestellt.

Antikörper	Kategorisierung nach der Färbeintensivität			
	-	+	++	+++
FATP-1	Negativ	Schwach	Mittel	Stark
FATP-4	Negativ	Schwach	Mittel	Stark

Abbildung 4: Kategorisierung der Antikörper

2.7 Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgte durch die Berechnung der Differenz der dCT-Werte von jeder Probe zu seinem Housekeeping-Gen. Mit der Formel: $2^{-(\Delta C_T)}$ konnte die exponentielle Expression berechnet werden. Mittels Mann-Whitney-U-Test für jeden einzelnen Zeitpunkt konnten mit der Software GraphPad Prism 6.0 Mediane und Interquartil-Bereiche berechnet werden.

Die statistische Analyse der Unterschiede in der Fettsäureverteilung erfolgte durch den Student's t-test und one-way ANOVA. Bei Angaben von Mittelwerten wurde die Streuung jeweils als Standardfehler des Mittelwerts angegeben. Statistische Signifikanz mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von $p < 0,05$, $p < 0,01$ oder $p < 0,001$ werden mit *, ** bzw. *** bzw. mit Superskript-Buchstaben markiert. Alle statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe des Programms SPSS (SPSS Inc., Chicago, USA) und GraphPad Prism 6.0 durchgeführt. Die graphische Darstellung der Daten und die Niederschrift dieser Arbeit erfolgte mit Hilfe der Programme Microsoft Office (Microsoft Corporation, CA, USA) und Adobe Illustrator (Adobe Systems Inc., NJ, USA).

3 Ergebnisse

3.1 Demographische Daten der Probandinnen

Die Probandinnen wurden in 2 experimentelle Gruppen unterteilt. 11 Schwangere mit Diabetes mellitus formten die Fallgruppe (DM-Gruppe), 10 gesunde Schwangere die Kontrollgruppe (K-Gruppe). Alle Probandinnen hielten eine ausgewogene Ernährung und hatten keine Gesundheitsprobleme oder Schwangerschaftskomplikationen außer des Diabetes mellitus. Im Folgenden sind Mittelwerte und Standardfehler für kommende Parameter berechnet: Alter der Mutter zum Zeitpunkt der Geburt, Gewicht der Mutter vor der Schwangerschaft, Gewicht der Mutter zum Geburtstermin, Gewichtszunahme während der Schwangerschaft, Größe der Mutter, Gewicht des Neugeborenen, Größe des Neugeborenen und Kopfumfang des Neugeborenen.

Merkmal	Kontrollgruppe	GDM-Gruppe	P-Wert
Alter (Jahre)	32,6 ± 1,5	33,73 ± 1,2	0,556
Gewicht vor Schwangerschaft (kg)	60,7 ± 3,9	71,2 ± 5,7	0,155
Gewicht zum Zeitpunkt Geburt (kg)	76,1 ± 5,6	88,3 ± 6,4	0,173
Gewichtszunahme (kg)	15,4 ± 1,9	17,1 ± 2,1	0,557
Größe (m)	1,67 ± 0,03	1,63 ± 0,02	0,321
Gestationsalter (Wochen)	38,17 ± 0,3	37,9 ± 0,3	0,528
Gewicht des Neugeborenen (g)	3184 ± 152,7	3740 ± 237,9	0,065
Größe des Neugeborenen (cm)	51,9 ± 1,2	52,3 ± 0,6	0,798
Kopfumfang des Neugeborenen (cm)	35,1 ± 0,4	35,9 ± 0,5	0,269

Tabelle 10: Demographische Daten der Probandinnen. Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. P-Werte sind mit dem t-test berechnet.

In der statistischen Berechnung ergeben sich keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen. Bei Betrachtung des Gewichts vor Schwangerschaft und das Gewicht des Neugeborenen im Vergleich fällt auf, dass ein Trend dahingehend sichtbar wird, dass die Schwangeren der GDM-Gruppe potenziell ein höheres Gewicht hatten und auch ihre Neugeborenen tendenziell schwerer waren als die Neugeborenen gesunder Mütter. Die nachfolgende Tabelle soll die Stoffwechsellaage der Schwangeren zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Geburt darstellen.

Merkmal	Kontrollgruppe	GDM-Gruppe	P-Wert
Gesamt-Cholesterin	274,4 ± 18,17	243,6 ± 13,27	0,182
LDL	147,1 ± 17,18	124,5 ± 12,68	0,317
HDL	80,00 ± 4,38	62,90 ± 4,03*	0,011
Triglyzeride	236,6 ± 22,21	298,5 ± 38,65	0,195
Glukose	91,89 ± 5,00	119,2 ± 11,11*	0,039

Tabelle 11: Stoffwechselsituation der Schwangeren zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Geburt. Blutwerte sind nicht nüchtern erhoben. Alle Werte sind Mittelwerte ± SEM. P-Werte sind mit dem t-test berechnet. Signifikante Unterschiede sind mit einem Sternchen markiert.

Die erhobenen Blutwerte, welche die Stoffwechselsituation der Schwangeren kurz vor der Geburt darstellen sollen, zeigen signifikante Unterschiede in beiden Gruppen für die Werte HDL-Cholesterin und Glukose. Die Schwangeren mit diabetogener Stoffwechsellaage haben ein signifikant niedrigeres HDL und eine höhere Blutglukose als ihre gesunde Vergleichsgruppe.

3.2 mRNA-Expression der Fettsäuretransportproteine in Plazentagewebe

Um die Mechanismen zu verstehen, die für den plazentaren Fettsäuretransport von LC-PUFA verantwortlich sind, wurde in einer Versuchsreihe mittels Real-Time-PCR das Expressionsverhalten von mRNA von verschiedenen Fettsäuretransportproteinen in Plazentagewebe von gesunden Schwangeren und schwangeren Diabetikerinnen bestimmt und miteinander verglichen. Außer den Fettsäuretransportproteinen FATP-1, FATP-4, FATP-6, FAPBpm, FAT/CD36 und aFABP wurde ebenfalls die mRNA-Expression von den Fettsäuredesaturasen FADS-1 und FADS-2 sowie der Lipasen hEL und hLPL bestimmt. In der folgenden Tabelle sind die Mediane und P-Werte beider untersuchter Gruppen dargestellt.

	Median		P-Wert
	Gesund	DM	
FATP-1	0,013	0,005	0,393
FATP-4	0,014	0,013	0,912
FATP-6	0,058	0,054	0,853
FABPpm	0,044	0,036	0,684
FAT/CD36	0,396	0,354	0,739
aFABP	1,683	0,944	0,529
FADS-1	0,031	0,237	0,579
FADS-2	0,014	0,025	0,739
hLPL	0,001	0,000	0,340
hEL	0,126	0,114	0,912

Tabelle 12: Expressionsverhalten der gemessenen mRNAs. Dargestellt sind Mediane und P-Werte. Signifikante Unterschiede sind mit einem Sternchen markiert.

3.2.1 Die FATP-Familie mit Acyl-CoA-Synthetase-Aktivität (Fatty Acid Transport Proteins)

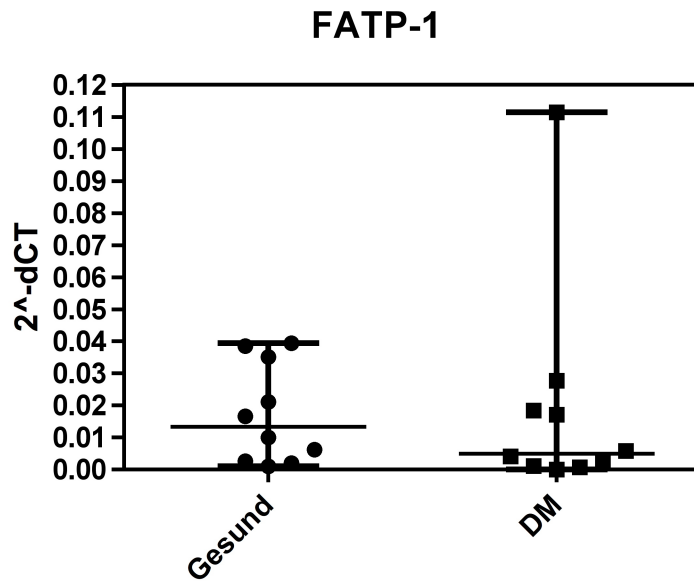


Abbildung 5: Expression von FATP-1 in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt. P-Werte wurden mittels Mann-Whitney-U-Test errechnet. Ab einem $p < 0,05$ wurde von statistischer Signifikanz ausgegangen. Statistisch signifikante Ergebnisse sind mit einem Sternchen markiert.

Wie in der oben aufgeführten Grafik zu erkennen ist, zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Bei FATP-1 ließ sich $p = 0,393$ mit den Medianen (Gesund) $x = 0,013$, $Q_{0,25} = 0,002$ und $Q_{0,75} = 0,037$, sowie Median (DM) $M = 0,005$, $Q_{0,25} = 0,001$ und $Q_{0,75} = 0,023$ berechnen.

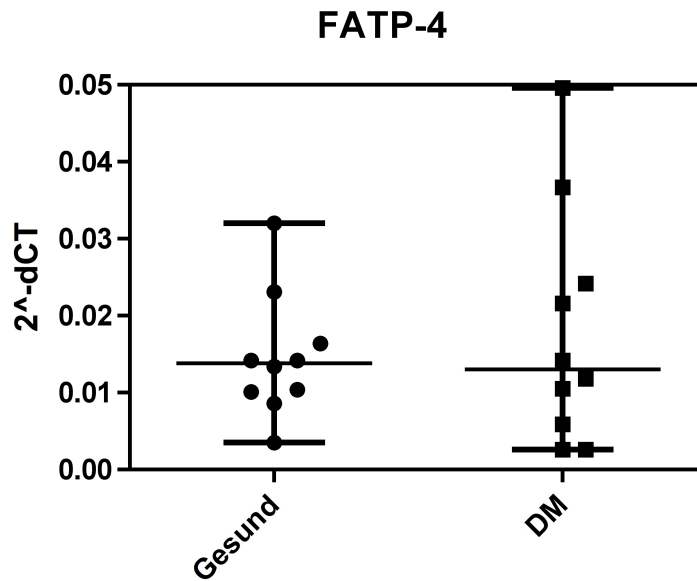


Abbildung 6: Expression von FATP-4 in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Der Expressionsvergleich beider Gruppen auf FATP-4 ergab $p = 0,911$ mit den Medianen (Gesund) $M = 0,014$, 25%-Perzentile $Q_{0,25} = 0,009$ und $Q_{0,75} = 0,020$, sowie Median (DM) $M = 0,013$, $Q_{0,25} = 0,004$ und $Q_{0,75} = 0,030$. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen.

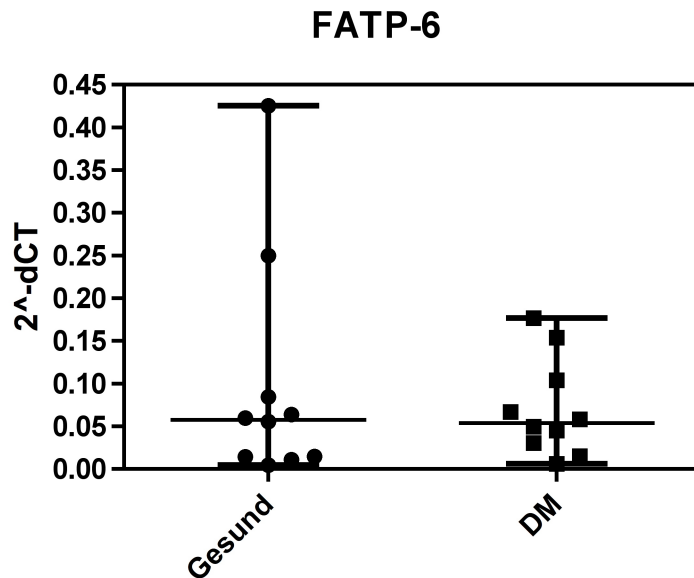


Abbildung 7: Expression von FATP-6 in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Die Analyse von FATP-6 ergab $p = 0,853$ mit den Medianen (Gesund) $M = 0,058$, $Q_{0,25} = 0,013$ und $Q_{0,75} = 0,167$, sowie Median (DM) $M = 0,054$, $Q_{0,25} = 0,023$ und $Q_{0,75} = 0,129$. Hieraus ergibt sich, dass kein Unterschied in beiden Versuchsgruppen besteht.

Beide Gruppen von Schwangeren zeigen ein vergleichbares Expressionsverhalten von FATP-1, FATP-4 und FATP-6.

3.2.2 Fettsäurebindungsprotein (FABPpm)

In folgender Abbildung ist der Vergleich des Expressionsverhaltens von FABPpm in beiden Gruppen grafisch dargestellt.

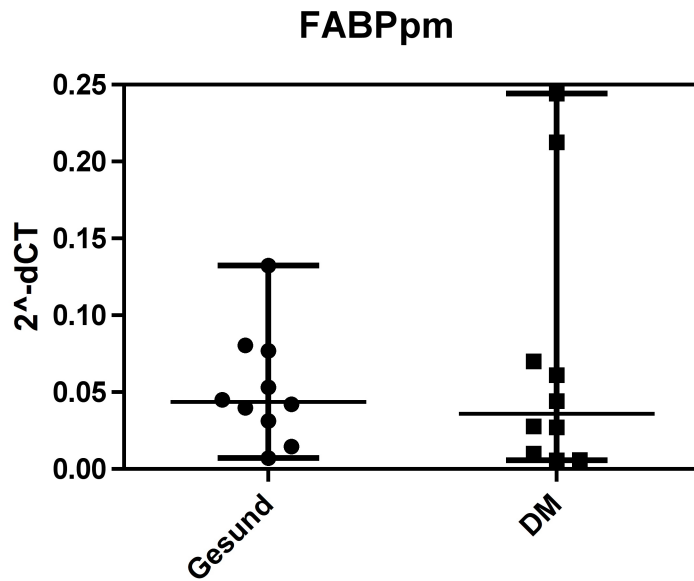


Abbildung 8: Expression von FABPpm in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Bei FABPpm ließ sich $p = 0,684$ mit den Medianen (Gesund) $M = 0,044$, $Q_{0,25} = 0,023$ und $Q_{0,75} = 0,079$, sowie Median (DM) $M = 0,036$, $Q_{0,25} = 0,008$ und $Q_{0,75} = 0,142$ berechnen. Dieses Ergebnis verdeutlicht, dass schwangere Diabetikerinnen und gesunde Schwangere eine vergleichbare Expression von FABPpm-mRNA zeigen.

3.2.3 Fettsäuretranslokase (FAT/CD36)

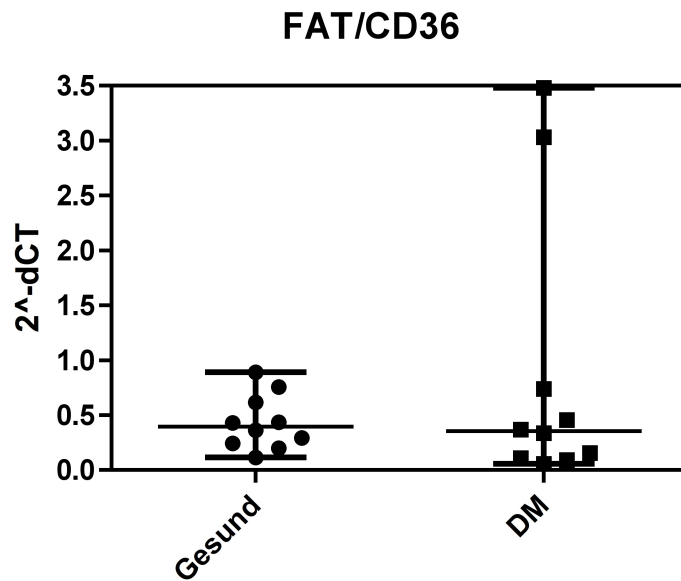


Abbildung 9: Expression von FAT/CD36 in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Die Untersuchung auf das Expressionsverhalten von FAT/CD36 in beiden Gruppen ergab $p = 0,739$ mit den Medianen (Gesund) $M = 0,396$, $Q_{0,25} = 0,221$ und $Q_{0,75} = 0,687$ sowie Median (DM) $M = 0,354$, $Q_{0,25} = 0,100$ und $Q_{0,75} = 1,890$. Dies bedeutet, dass sich die Expression bei gesunden Schwangeren und Schwangeren mit DM nicht unterscheidet.

3.2.4 Adipozyten-Fettsäurebindungsprotein (aFABP)

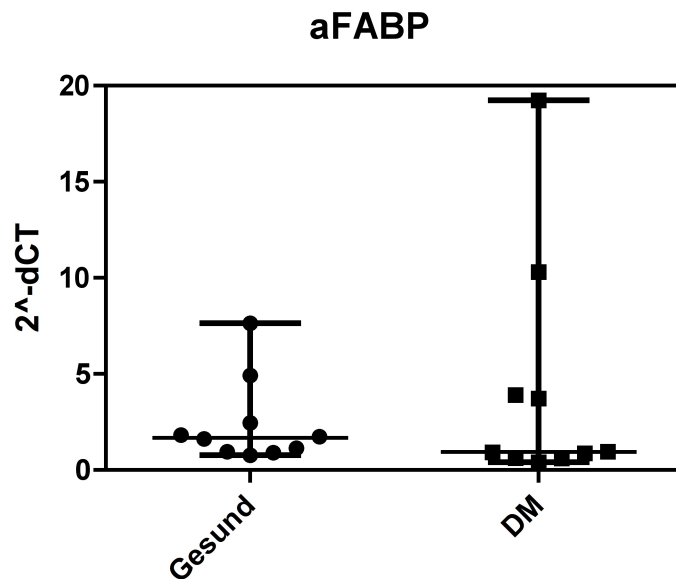


Abbildung 10: Expression von aFABP in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Bei der dargestellten Untersuchung von aFABP ließ sich ein $p = 0,529$ mit den Medianen (Gesund) $M = 1,683$, $Q_{0,25} = 0,939$ und $Q_{0,75} = 3,693$ sowie Median (DM) $M = 0,949$, $Q_{0,25} = 0,623$ und $Q_{0,75} = 7,112$ berechnen. Aus diesen Ergebnissen ergibt sich die Schlussfolgerung, dass die Gruppe der gesunden Schwangeren gegenüber den schwangeren Diabetikerinnen in Bezug auf aFABP ein vergleichbares mRNA-Expressionsverhalten zeigt.

3.2.5 Fettsäuredesaturasen (FADS)

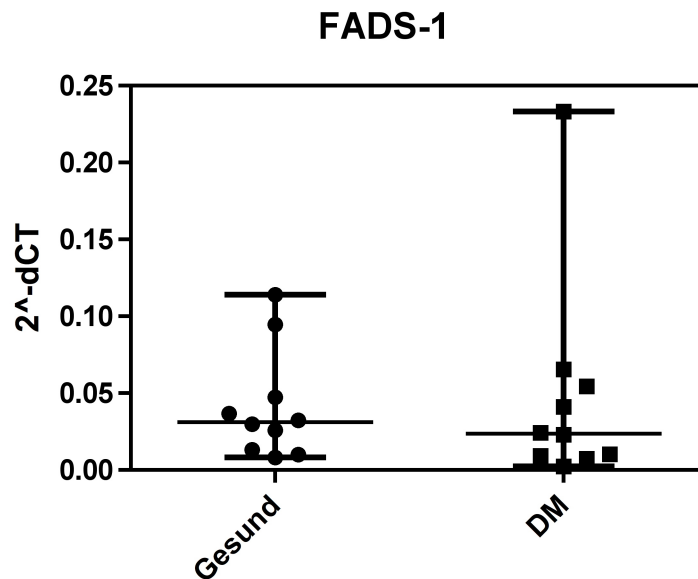


Abbildung 11: Expression von FADS-1 in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Bei FADS-1 ließ sich $p = 0,579$ mit den Medianen (Gesund) $x = 0,031$, $Q_{0,25} = 0,012$ und $Q_{0,75} = 0,071$, sowie Median (DM) $x = 0,0237$, $Q_{0,25} = 0,008$ und $Q_{0,75} = 0,060$ berechnen. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in beiden Gruppen.

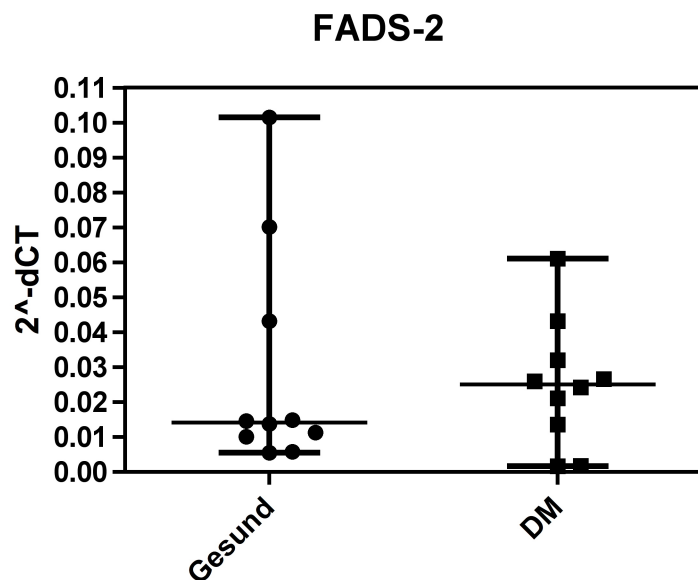


Abbildung 12: Expression von FADS-2 in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Der Expressionsvergleich beider Gruppen auf FADS-2 ergab $p = 0,739$ mit den Medianen (Gesund) $x = 0,014$, $Q_{0,25} = 0,008$ und $Q_{0,75} = 0,057$ sowie Median (DM) $x = 0,025$, $Q_{0,25} = 0,008$ und $Q_{0,75} = 0,038$. Es lässt sich hieraus schließen, dass es keinen Unterschied in der Expression der mRNA für Fettsäuredesaturasen im plazentaren Gewebe zwischen gesunden Schwangeren und Schwangeren mit DM gibt.

3.2.6 Lipoproteinlipase und endotheliale Lipase (hLPL und hEL)

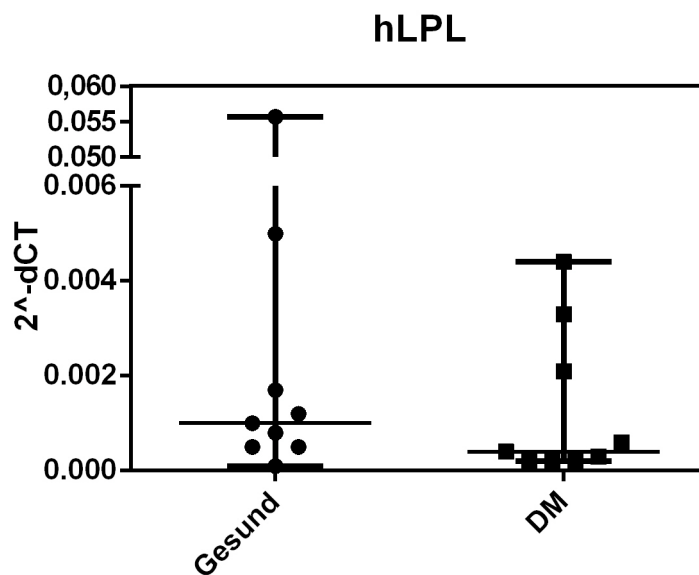


Abbildung 13: Expression von hLPL in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Bei hLPL ließ sich $p = 0,340$ mit den Medianen (Gesund) $x = 0,001$, $Q_{0,25} = 0,001$ und $Q_{0,75} = 0,003$, sowie Median (DM) $x = 0,0004$, $Q_{0,25} = 0,0002$ und $Q_{0,75} = 0,003$ berechnen. Dieses Ergebnis verdeutlicht, dass die beiden Untersuchungsgruppen keine signifikant unterschiedliche Expression der Lipoproteinlipase aufweisen.

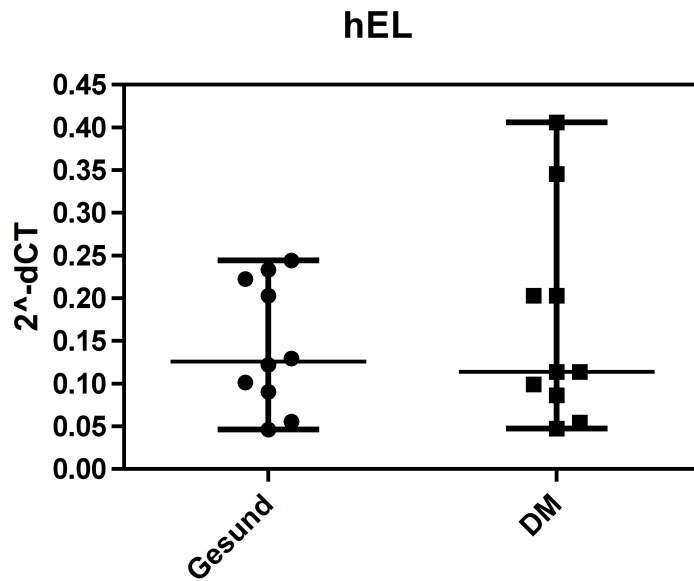


Abbildung 14: Expression von hEL in der Plazenta von 10 gesunden Probandinnen und 10 Probandinnen mit DM. Mittels real-time PCR-Analyse wurde in vergleichender Quantifizierung mit dem housekeeping-Gen GAPDH als Kalibrator der dCT-Wert und mit der Formel 2^{-dCT} die relative Quantität der Proben ermittelt.

Der Expressionsvergleich beider Gruppen auf hEL ergab $p = 0,912$ mit den Medianen (Gesund) $\bar{x} = 0,126$, $Q_{0,25} = 0,073$ und $Q_{0,75} = 0,228$, sowie Median (DM) $\bar{x} = 0,114$, $Q_{0,25} = 0,070$ und $Q_{0,75} = 0,274$. Auch die endotheliale Lipase brachte keinen signifikanten Expressionsunterschied in der Gruppe der gesunden Schwangeren verglichen mit DM Schwangeren hervor.

3.3 Fettsäure-Zusammensetzung

3.3.1 Fettsäure-Zusammensetzung im Blutplasma

K-Gruppe	K_Maternal			K_NeoVene			K_NeoA			K_Plazenta		
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n
Phospholipide – PL (% wt/wt)												
PA	31,78	±	0,75	29,87	±	0,49	30,13	±	0,86	27,91	±	0,89 ^c
OA	10,48	±	0,44	9,79	±	0,45	9,48	±	0,56	8,17	±	0,15 ^{ce}
LA	18,98	±	0,58	6,94	±	0,28 ^a	7,32	±	0,73 ^b	8,82	±	0,36 ^{ce}
AA	8,50	±	0,43	13,58	±	0,94 ^a	13,22	±	1,09 ^b	21,78	±	0,72 ^{cef}
DHA	3,60	±	0,31	4,23	±	0,41	3,79	±	0,39	4,68	±	0,90
Total PUFA	36,65	±	1,15	32,42	±	0,99	31,60	±	2,02	43,13	±	1,33 ^{cef}
LC-PUFA	16,89	±	0,66	23,42	±	1,71 ^a	23,56	±	1,78 ^b	33,97	±	1,07 ^{cef}
Total FA [mg/dl]	172,9	±	14,96	51,38	±	3,72 ^a	55,66	±	8,66 ^b	307,4	±	47,00 ^{cef}
Triglyzeride – TG (% wt/wt)												
PA	32,06	±	1,09	32,49	±	1,13	33,50	±	0,92	29,30	±	1,33
OA	34,86	±	0,94	21,32	±	1,71 ^a	21,50	±	2,48 ^b	13,57	±	1,24 ^{cef}
LA	14,03	±	1,24	8,25	±	0,46 ^a	8,48	±	0,52 ^b	8,62	±	0,85 ^c
AA	0,79	±	0,06	2,72	±	0,44	2,64	±	0,48	8,85	±	1,22 ^{cef}
DHA	0,45	±	0,08	2,20	±	0,46 ^a	1,93	±	0,43 ^b	4,51	±	0,39 ^{cef}
Total PUFA	17,45	±	1,31	17,59	±	1,63	17,14	±	1,67	30,43	±	2,28 ^{cef}
LC-PUFA	2,04	±	0,14	8,23	±	1,28 ^a	7,83	±	1,41 ^b	21,07	±	1,63 ^{cef}
Total FA [mg/dl]	147,2	±	19,17	12,88	±	1,72 ^a	18,55	±	3,43 ^b	12,06	±	2,22 ^c
Cholesterinester - CE (% wt/wt)												
PA	13,33	±	0,17	27,26	±	2,92 ^a	24,16	±	0,82 ^b	19,33	±	1,30 ^e
OA	20,92	±	0,76	24,31	±	1,56	24,47	±	1,00	16,65	±	1,82 ^{ef}
LA	47,98	±	1,26	14,51	±	0,71 ^a	16,44	±	1,79 ^b	28,66	±	3,28 ^{cef}
AA	6,09	±	0,24	9,31	±	1,32	10,52	±	0,88 ^b	6,98	±	0,98
DHA	0,48	±	0,11	0,72	±	0,13	0,85	±	0,09	1,71	±	0,28 ^{cef}
Total PUFA	57,80	±	1,23	26,79	±	2,15 ^a	31,21	±	2,28 ^b	44,62	±	3,77 ^{cef}
LC-PUFA	8,13	±	0,26	12,47	±	1,15 ^a	13,77	±	1,12 ^b	13,77	±	1,21 ^c
Total FA [mg/dl]	120,4	±	9,42	22,78	±	2,49 ^a	26,66	±	2,91 ^b	9,00	±	1,18 ^c
Freie Fettsäuren - NEFA (% wt/wt)												
PA	34,33	±	1,52	40,46	±	3,27	35,05	±	2,37	27,86	±	1,63 ^e
OA	20,99	±	2,49	4,95	±	2,02 ^a	11,22	±	3,09 ^b	8,19	±	0,67 ^c
LA	9,16	±	0,87	4,23	±	1,40 ^a	8,61	±	1,71	8,13	±	0,39
AA	1,00	±	0,21	0,42	±	0,17	2,44	±	1,13	12,99	±	1,88 ^{cef}
DHA	0,40	±	0,07	0,26	±	0,14	0,86	±	0,49	2,97	±	0,48 ^{cef}
Total PUFA	12,83	±	1,27	8,15	±	2,06	15,19	±	3,71	29,93	±	2,76 ^{cef}
LC-PUFA	2,80	±	0,41	2,48	±	0,95	5,57	±	2,22	21,38	±	2,84 ^{cef}
Total FA [mg/dl]	12,99	±	1,92	6,89	±	1,32	11,59	±	2,43	28,90	±	6,43 ^{cef}

Tabelle 13: Fettsäure-Zusammensetzung der Kontrollgruppe von mütterlichem Blutplasma
K_Maternal, venösem Nabelschnurblut K_NeoVene und Plazentagewebe K_Plaz. Mittelwerte (MW) und Standardfehler (σ_n) sind angegeben. Signifikanzen wurden mit dem one-way ANOVA test gefolgt vom Tukey-Test berechnet. Signifikante Unterschiede sind mit Superskript-Buchstaben markiert. ^a = signifikanter Unterschied zwischen K_Mat und K_NeoV. ^b = signifikanter Unterschied zwischen K_Mat und K_NeA. ^c = signifikanter Unterschied zwischen K_Mat und K_Plaz. ^d = signifikanter Unterschied zwischen K_NeoV und K_NeoA. ^e = signifikanter Unterschied zwischen K_NeoV und K_Plaz. ^f = signifikanter Unterschied zwischen K_NeoA und K_Plaz.

Im mütterlichen Blutplasma von Patientinnen der Kontrollgruppe hatte die gesättigte Fettsäure Palmitinsäure PA ihren höchsten Anteil in Phospholipiden ($31,78 \pm 0,75$ %) gespeichert, gefolgt von NEFA ($34,33 \pm 1,52$ %), TG ($32,06 \pm 1,09$ %) und CE ($13,33 \pm 0,17$ %). Die einfach ungesättigte Fettsäure Ölsäure OA war in der Triglyzeridfraction ($34,86 \pm 0,94$ %) am stärksten vertreten, gefolgt von NEFA ($20,99 \pm 2,49$ %), CE ($20,92 \pm 0,76$ %) und Phospholipiden ($10,48 \pm 0,44$ %).

Die PUFA Linolsäure LA war im mütterlichen Blutplasma anteilig in den Cholesterinestern ($47,98 \pm 1,26$ %) am stärksten vertreten. Danach folgten PL ($18,98 \pm 0,58$ %), TG ($14,03 \pm 1,24$ %) und NEFA ($9,16 \pm 0,87$ %). Die LC-PUFA Arachidonsäure AA und Docosahexaensäure zeigten eine ähnliche Verteilung in den verschiedenen Lipidfraktionen. Am stärksten waren beide FS vertreten in der Phospholipidfraktion (AA $8,50 \pm 0,43$ %; DHA $4,37 \pm 0,27$ %) des mütterlichen Blutplasmas. Als zweitstärkste Fraktion lagen Cholesterinester (AA $6,09 \pm 0,24$ %; DHA $0,48 \pm 0,11$ %) vor. Danach folgte bei der Arachidonsäure die Fraktion der NEFA (AA $1,00 \pm 0,21$ %); knapp gefolgt von Triglyzeriden (AA $0,79 \pm 0,06$ %). Die DHA zeigte hier ein umgekehrtes Verhalten mit der drittstärksten Fraktion der Triglyzeride (DHA $0,45 \pm 0,08$ %) und der schwächsten Fraktion der NEFA (DHA $0,40 \pm 0,07$ %).

Im venösen Nabelschnurblut der GDM-Gruppe war der größte Anteil an LC-PUFA in der Phospholipidfraktion zu messen (AA $13,58 \pm 0,94$ %; DHA $4,23 \pm 1,29$ %). Die Arachidonsäure-Anteile waren im weiteren Verlauf leicht unterschiedlich verteilt gegenüber der DHA-Anteile. Sie hatte ihren zweitgrößten Anteil in den Cholesterinestern ($9,31 \pm 1,32$ %), gefolgt von Triglyzeriden ($2,72 \pm 0,44$ %) und NEFA ($0,42 \pm 0,55$ %). Die DHA hatte ihren zweitgrößten Anteile hingegen in der Fraktion der Triglyzeride ($2,20 \pm 0,46$ %), gefolgt von Cholesterinestern ($0,72 \pm 0,13$ %) und NEFA ($0,26 \pm 0,14$ %). Im arteriellen Nabelschnurblut zeigte sich ein ähnliches Verhalten wie im venösen Nabelschnurblut. Die stärkste Arachidonsäurefraktion war ebenfalls die Phospholipidfraktion ($13,22 \pm 1,09$ %), gefolgt von Cholesterinestern ($10,52 \pm 0,88$ %), Triglyzeriden ($2,64 \pm 0,48$ %) und NEFA ($2,44 \pm 1,13$ %) in absteigender Reihenfolge. Die DHA verhielt sich ebenfalls analog in beiden Nabelschnurarterien mit ihrem stärksten Anteil in der Phospholipidfraktion

($3,79 \pm 0,39$ %) sowie in abnehmender Reihenfolge Triglyzeride ($1,93 \pm 0,43$ %), Cholesterinester ($0,85 \pm 0,09$ %) und NEFA ($0,86 \pm 0,49$ %).

Im Plazentagewebe der GDM-Gruppe zeigten sich folgende Konstellationen. Der größte Anteil an Arachidonsäure war in der Phospholipidfraktion zu messen (AA $21,78 \pm 0,72$ %). Auch DHA war am stärksten in der PL-Fraktion vorhanden (DHA $4,68 \pm 0,90$ %). Als zweitgrößten Anteil war die AA in NEFA (AA $12,99 \pm 1,88$ %) zu finden, gefolgt von Triglyzeride (AA $8,85 \pm 1,22$ %) und CE (AA $6,98 \pm 0,98$ %). Die DHA hatte ihren zweithöchsten Anteil in der Triglyzeridfraktion ($4,51 \pm 0,39$ %), gefolgt von NEFA ($2,97 \pm 0,48$ %) und Cholesterinestern ($1,71 \pm 0,28$ %).

GDM-Gruppe	GDM_Maternal			GDM_NeoVene			GDM_NeoA			GDM_Plazenta		
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n
Phospholipide – PL (% wt/wt)												
PA	32,19	±	0,28	30,76	±	0,89	32,77	±	1,85	26,85	±	0,39 ^{cef}
OA	10,17	±	0,34	9,96	±	0,47	8,58	±	0,57 ^b	9,16	±	0,21
LA	18,54	±	0,53	7,83	±	0,75 ^a	6,41	±	0,52 ^b	9,50	±	0,42 ^{cf}
AA	8,56	±	0,46	13,87	±	0,93 ^a	13,90	±	0,92 ^b	21,52	±	0,62 ^{cef}
DHA	3,22	±	0,29	4,81	±	0,56 ^a	4,17	±	0,45	4,71	±	0,29 ^{cef}
Total PUFA	35,51	±	0,80	35,51	±	1,80	28,47	±	2,69 ^{bd}	43,31	±	0,67
LC-PUFA	16,24	±	0,47	27,33	±	2,10 ^a	21,42	±	2,68	33,38	±	0,72 ^{cf}
Total FA [mg/dl]	141,1	±	9,84	47,79	±	8,21 ^a	28,46	±	4,74 ^b	295,9	±	30,74 ^{cef}
Triglyzeride – TG (% wt/wt)												
PA	32,77	±	0,82	36,46	±	2,29	36,44	±	1,98	28,63	±	1,63 ^{ef}
OA	35,59	±	1,85	23,63	±	2,30 ^a	21,88	±	1,06 ^b	16,06	±	0,87 ^{ce}
LA	12,19	±	0,60	8,79	±	0,54 ^a	7,75	±	0,57 ^b	10,63	±	0,65 ^f
AA	0,61	±	0,08	2,44	±	0,59	4,16	±	0,76 ^b	9,80	±	1,10 ^{cef}
DHA	0,35	±	0,06	1,85	±	0,31	1,84	±	0,35	4,91	±	0,73 ^{cef}
Total PUFA	15,28	±	0,75	16,71	±	1,81	18,74	±	1,93	33,49	±	1,94 ^{cef}
LC-PUFA	1,95	±	0,25	8,32	±	1,51 ^a	10,20	±	1,59 ^b	22,01	±	1,70 ^{cef}
Total FA [mg/dl]	118,5	±	18,80	16,26	±	5,60 ^a	7,85	±	1,64 ^b	10,05	±	1,44 ^c
Cholesterinester - CE (% wt/wt)												
PA	13,78	±	0,43	24,28	±	1,69 ^a	26,60	±	2,47 ^b	17,74	±	1,31 ^{ef}
OA	20,77	±	0,60	24,87	±	1,67	25,53	±	1,43	17,15	±	1,63 ^{ef}
LA	47,08	±	1,05	18,57	±	2,56 ^a	15,65	±	1,30 ^b	27,55	±	3,25 ^{cef}
AA	6,66	±	0,47	10,97	±	0,77 ^a	11,45	±	1,31 ^b	7,17	±	0,86 ^{ef}
DHA	0,37	±	0,11	0,87	±	0,11	0,92	±	0,18	1,67	±	0,22 ^{cef}
Total PUFA	57,56	±	1,17	33,61	±	2,44 ^a	31,56	±	2,07 ^b	44,62	±	3,77 ^{cef}
LC-PUFA	8,86	±	0,62	14,05	±	0,95 ^a	15,14	±	1,31 ^b	13,77	±	1,21 ^c
Total FA [mg/dl]	101,7	±	6,71	20,91	±	3,78 ^a	13,10	±	2,48 ^b	9,00	±	1,18 ^c
Freie Fettsäuren - NEFA (% wt/wt)												
PA	34,10	±	1,94	42,09	±	1,78 ^a	46,54	±	2,58 ^b	28,26	±	1,58 ^{ef}
OA	23,25	±	2,44	7,68	±	2,19 ^a	2,77	±	1,36 ^b	9,84	±	0,92 ^c
LA	9,95	±	0,66	3,72	±	1,25 ^a	2,82	±	0,80 ^b	8,61	±	0,49 ^{ef}
AA	1,64	±	0,51	1,44	±	0,45	0,47	±	0,14	14,56	±	2,10 ^{cef}
DHA	0,73	±	0,21	0,64	±	0,16	0,32	±	1,90	2,93	±	0,48 ^{cef}
Total	15,61	±	1,09	12,32	±	1,32	6,14	±	1,27 ^b	31,38	±	3,52 ^{cef}

PUFA										
LC-PUFA	4,74	±	0,91	7,08	±	0,85	3,22	±	1,18	22,3 5 ± 3,17 ^{cef}
Total FA [mg/dl]	13,62	±	1,50	5,00	±	1,08 ^a	1,96	±	0,38 ^b	21,58 ± 3,14 ^{cef}

Tabelle 14: Fettsäure-Zusammensetzung der Fallgruppe von mütterlichem Blutplasma GDM_Maternal, venösem Nabelschnurblut GDM_NeoVene und Plazentagewebe GDM_Plaz.
Mittelwerte (MW) und Standardfehler (σ_n) sind angegeben. Signifikante Unterschiede sind mit Superskript-Buchstaben markiert. ^a= signifikanter Unterschied zwischen K_Mat und K_NeoV. ^b= signifikanter Unterschied zwischen K_Mat und K_NeA. ^c= signifikanter Unterschied zwischen K_Mat und K_Plaz. ^d= signifikanter Unterschied zwischen K_NeoV und K_NeoA. ^e= signifikanter Unterschied zwischen K_NeoV und K_Plaz. ^f= signifikanter Unterschied zwischen K_NeoA und K_Plaz.

Im mütterlichen Blutplasma von Patientinnen der GDM-Gruppe zeigte sich folgendes Verteilungsmuster. Die gesättigte Fettsäure Palmitinsäure PA hatte ihren höchsten Anteil in NEFA ($34,10 \pm 1,94 \%$) gespeichert, gefolgt von TG ($32,77 \pm 0,82 \%$), Phospholipiden ($32,19 \pm 0,28 \%$) und CE ($13,78 \pm 0,43 \%$). Die einfach ungesättigte Fettsäure Ölsäure OA kam in der höchsten Konzentration in Triglyzeriden ($35,59 \pm 1,85 \%$) vor, gefolgt von NEFA ($23,25 \pm 2,44 \%$), CE ($20,77 \pm 0,60 \%$) und PL ($10,17 \pm 0,34 \%$). Die PUFA Linolsäure LA war im mütterlichen Blutplasma anteilig in den Cholesterinestern ($47,08 \pm 1,05 \%$) am stärksten vertreten. Danach folgten PL ($18,54 \pm 0,53 \%$), TG ($12,19 \pm 0,60 \%$) und NEFA ($9,95 \pm 0,66 \%$). Die LC-PUFA Arachidonsäure AA und Docosahexaensäure legten ein ähnliches Verteilungsmuster an den Tag. Am stärksten waren beide FS vertreten in den Phospholipiden (AA $8,56 \pm 0,46 \%$; DHA $3,32 \pm 0,29 \%$) des mütterlichen Blutplasmas. Als zweitstärkste Fraktion lagen Cholesterinester (AA $6,66 \pm 0,47 \%$; DHA $0,37 \pm 0,11 \%$) vor. Danach folgte die Fraktion der NEFA (AA $1,64 \pm 0,51 \%$; DHA $0,73 \pm 0,21 \%$); gefolgt von Triglyzeriden (AA $0,61 \pm 0,08 \%$; DHA $0,35 \pm 0,06 \%$).

Im venösen Nabelschnurblut der GDM-Gruppe war der größte Anteil an LC-PUFA in der Phospholipidfraktion zu messen (AA $13,87 \pm 0,93 \%$; DHA $4,81 \pm 0,56 \%$). Die Arachidonsäure-Anteile waren im weiteren Verlauf leicht unterschiedlich verteilt gegenüber der DHA-Anteile. Sie hatte ihren zweitgrößten Anteil in den Cholesterinestern ($10,97 \pm 0,77 \%$), gefolgt von Triglyzeriden ($2,44 \pm 0,59 \%$) und NEFA ($1,44 \pm 0,45 \%$). Die DHA hatte ihren zweitgrößten Anteile hingegen in der Fraktion der Triglyzeride ($1,85 \pm 0,31 \%$), gefolgt von Cholesterinestern ($0,87 \pm 0,11 \%$) und NEFA ($0,64 \pm 0,16 \%$). Im arteriellen Nabelschnurblut zeigte sich ein ähnliches Verhalten wie im venösen Nabelschnurblut. Die stärkste Arachidonsäurefraktion war ebenfalls die Phospholipidfraktion ($13,81 \pm 0,82 \%$), gefolgt von Cholesterinestern ($11,45 \pm 1,31 \%$), Triglyzeriden ($4,16 \pm 0,76 \%$) und NEFA ($0,47 \pm 0,14 \%$) in absteigender Reihenfolge. Die DHA verhielt sich ebenfalls analog in beiden Nabelschnurarterien mit ihrem stärksten

Anteil in der Phospholipidfraktion ($4,17 \pm 0,45 \%$) sowie in abnehmender Reihenfolge Triglyzeride ($1,84 \pm 0,35 \%$), Cholesterinester ($0,92 \pm 0,18 \%$) und NEFA ($0,32 \pm 1,90 \%$).

Im Plazentagewebe der GDM-Gruppe zeigten sich folgende Konstellationen. Der größte Anteil an Arachidonsäure war in der Phospholipidfraktion zu messen ($AA\ 21,52 \pm 0,62 \%$). Als zweitgrößten Anteil war die AA in NEFA ($AA\ 14,56 \pm 2,10 \%$) zu finden, gefolgt von Triglyzeriden ($AA\ 9,80 \pm 1,10 \%$) und CE ($AA\ 7,17 \pm 0,86 \%$). Die DHA hatte ihren höchsten Anteil in der Triglyzeridfraktion ($DHA\ 4,91 \pm 0,73 \%$), gefolgt von Phospholipiden ($4,71 \pm 0,29 \%$), NEFA ($2,93 \pm 0,48 \%$) und Cholesterinestern ($1,67 \pm 0,22 \%$).

Im Vergleich von Kontrollgruppe und GDM-Gruppe zeigte sich in den verschiedenen Kompartimenten folgendes Verhalten:

PA	1.	2.	3.	4.
K_Maternal	NEFA	TG	PL	CE
GDM_Maternal	NEFA	TG	PL	CE
K_NeoVene	NEFA	TG	PL	CE
GDM_NeoVene	NEFA	TG	PL	CE
K_NeoArterie	NEFA	TG	PL	CE
GDM_NeoArterie	NEFA	TG	PL	CE
K_Plazenta	TG	PL	NEFA	CE
GDM_Plazenta	PL	TG	NEFA	CE

Tabelle 17: Palmitinsäure-Anteile in den verschiedenen Fraktionen in absteigender Rangfolge (1., 2., 3., 4.). Grau-Unterlegung zeigt Unterschiede beider Gruppen an.

OA	1.	2.	3.	4.
K_Maternal	TG	NEFA	CE	PL
GDM_Maternal	TG	NEFA	CE	PL
K_NeoVene	CE	TG	PL	NEFA
GDM_NeoVene	CE	TG	PL	NEFA
K_NeoArterie	CE	TG	NEFA	PL
GDM_NeoArterie	CE	TG	PL	NEFA
K_Plazenta	CE	TG	NEFA	PL
GDM_Plazenta	CE	TG	NEFA	PL

Tabelle 15: Ölsäure-Anteile in den verschiedenen Fraktionen in absteigender Rangfolge (1., 2., 3., 4.).

LA	1.	2.	3.	4.
K_Maternal	CE	PL	TG	NEFA
GDM_Maternal	CE	PL	TG	NEFA
K_NeoVene	CE	TG	PL	NEFA
GDM_NeoVene	CE	TG	PL	NEFA
K_NeoArterie	CE	NEFA	TG	PL
GDM_NeoArterie	CE	TG	PL	NEFA
K_Plazenta	CE	PL	TG	NEFA
GDM_Plazenta	CE	TG	PL	NEFA

Tabelle 16: Linolsäure-Anteile in den verschiedenen Fraktionen in absteigender Rangfolge (1., 2., 3., 4.).

AA	1.	2.	3.	4.	DHA	1.	2.	3.	4.
K_Maternal	PL	CE	TG	NEFA	K_Maternal	PL	CE	TG	NEFA
GDM_Maternal	PL	CE	TG	NEFA	GDM_Maternal	PL	NEFA	CE	TG
K_NeoVene	PL	CE	TG	NEFA	K_NeoVene	PL	TG	CE	NEFA
GDM_NeoVene	PL	CE	TG	NEFA	GDM_NeoVene	PL	TG	CE	NEFA
K_NeoArterie	PL	CE	TG	NEFA	K_NeoArterie	PL	TG	NEFA	CE
GDM_NeoArterie	PL	CE	TG	NEFA	GDM_NeoArterie	PL	TG	CE	NEFA
K_Plazenta	PL	NEFA	TG	CE	K_Plazenta	PL	TG	NEFA	CE
GDM_Plazenta	PL	NEFA	TG	CE	GDM_Plazenta	TG	PL	NEFA	CE

Tabelle 18: Arachidonsäure-Anteile (links) und DHA-Anteile (rechts) in den verschiedenen Fraktionen in absteigender Rangfolge (1., 2., 3., 4.)

Die Tabellen 15 – 18 veranschaulichen die Anteile der verschiedenen Fettsäuren an den Lipidfraktionen in Fall- und Kontrollgruppe. Vergleichend lässt sich feststellen, dass die gesättigte Fettsäure PA in beiden untersuchten Gruppen ein ähnliches Verteilungsmuster hat (Tabelle 17). Lediglich die Verteilung im Plazentagewebe unterscheidet sich leicht. Hier kommt die PA in der Kontrollgruppe am stärksten in der Triglyzeridfraktion vor gefolgt von der PL-Fraktion. In der GDM-Gruppe sieht dies unterschiedlich aus. Hier hat die PA ihren höchsten Anteil in der PL-Fraktion gefolgt von der Triglyzeridfraktion. Bei Betrachtung aller Blutproben von mütterlichem Blutplasma und Nabelschnurblut ergibt sich ein homogenes Verteilungsmuster mit der stärksten Fraktion in den freien nichtveresterten Fettsäuren gefolgt von TG, PL und CE.

Die einfach ungesättigte Fettsäure OA zeigt ebenfalls in beiden untersuchten Gruppen ein gleiches Verteilungsmuster (Tabelle 15). Lediglich in der Nabelschnurarterie unterscheiden sich die Verteilungen in beiden Gruppen. Hier ist die Ölsäure in beiden Gruppen anteilmäßig am stärksten vorzufinden in Cholesterinestern gefolgt von Triglyzeriden. In der Kontrollgruppe ist die drittstärkste Fraktion die Gruppe der NEFA gefolgt von CE. In der GDM-Gruppe ist jedoch die drittstärkste Fraktion die Gruppe der CE wohingegen die NEFA den kleinsten Anteil ausmachen. In allen anderen Blut- und Gewebeproben fallen keine Unterschiede zwischen beiden Gruppen auf. Für die Ölsäure ist bezeichnend, dass sie in mütterlichem Blutplasma am stärksten in der Fraktion der Triglyzeride vorkommt, in Nabelschnurblut und Plazentagewebe jedoch hauptsächlich in Cholesterinestern vorzufinden ist.

Bei der Linolsäure fällt auf, dass sie in allen Blut- und Gewebeproben ausnahmslos am stärksten in der Cholesterinesterfraktion vorzufinden ist und prozentual den kleinsten Anteil an freien Fettsäuren hat (Tabelle 16).

Die LC-PUFA Arachidonsäure und Docosahexaensäure sind zum größten Teil in Phospholipiden gebunden (Tabelle 18). Dies trifft für mütterliches Blut, Nabelschnurblut und Plazentagewebe gleichermaßen zu. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass tendenziell minimale Abweichungen in der Fettsäureverteilung zwischen beiden untersuchten Gruppen existieren, diese jedoch nicht signifikant sind.

3.3.1.1 Phospholipide

12h vor Geburt	K_Maternal			GDM_Maternal			P-Wert
Phospholipide (% wt/wt)	MW	±	σ_n	MW	±	σ_n	
PA 16:0	31,78	±	0,75	32,19	±	0,28	0,605
OA 18:1(n-9)	10,48	±	0,44	10,17	±	0,34	0,587
LA 18:2(n-6)	18,98	±	0,58	18,54	±	0,53	0,584
AA 20:4(n-6)	8,50	±	0,43	8,56	±	0,46	0,922
DHA 22:6(n-3)	3,60	±	0,31	3,22	±	0,29	0,383
Total PUFA	36,65	±	1,15	35,51	±	0,80	0,419
LC-PUFA	16,89	±	0,66	16,24	±	0,47	0,422
Total FA [mg/dl]	172,9	±	14,96	141,10	±	9,84	0,086

Tabelle 19: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Phospholipidfraktion von mütterlichem Blut von 10 gesunden Probandinnen (K_Mat) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Mat). Mittels Gas-Chromatographie wurden die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ_n sind in der Tabelle angegeben. P-Werte wurden mittels t-test errechnet. Ab einem $p < 0,05$ wurde von statistischer Signifikanz ausgegangen. Statistisch signifikante Ergebnisse sind mit einem Sternchen markiert.

Die Fettsäurezusammensetzung in der Phospholipidfraktion des mütterlichen Blutplasmas zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Geburt zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen (Tabelle 19).

Phospholipide (% wt/wt)	K_NeoV			GDM_NeoV			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	29,87	±	0,49	30,76	±	0,89	0,406
OA 18:1(n-9)	9,79	±	0,45	9,96	±	0,47	0,796
LA 18:2(n-6)	6,94	±	0,28	7,83	±	0,75	0,298
AA 20:4(n-6)	13,58	±	0,94	13,90	±	0,92	0,813
DHA 22:6(n-3)	4,23	±	0,41	4,81	±	0,56	0,423
Total PUFA	32,42	±	0,99	35,51	±	1,80	0,160
LC-PUFA	23,42	±	1,71	27,33	±	2,10	0,170
Total FA [mg/dl]	51,38	±	3,72	47,79	±	8,21	0,695

Tabelle 20: Fettsäurezusammensetzung in der Phospholipidfraktion von venösem Nabelschnurblut von Neugeborenen 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurden die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ_n sind in der Tabelle angegeben.

Die Fettsäurezusammensetzung der Phospholipidfraktion venösen Nabelschnurblutes zeigte ebenfalls keine signifikanten Auffälligkeiten zwischen Fall- und Kontrollgruppe (Tabelle 20).

Phospholipide (% wt/wt)	K_NeoA			GDM_NeoA			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	30,13	±	0,86	32,77	±	1,85	0,234
OA 18:1(n-9)	9,48	±	0,56	8,58	±	0,57	0,278
LA 18:2(n-6)	7,32	±	0,73	6,41	±	0,52	0,315
AA 20:4(n-6)	13,22	±	1,09	13,81	±	0,82	0,670
DHA 22:6(n-3)	3,79	±	0,39	4,17	±	0,45	0,548
Total PUFA	31,60	±	2,02	28,47	±	2,69	0,376
LC-PUFA	23,56	±	1,78	21,42	±	2,68	0,527
Total FA [mg/dl]	55,66	±	8,66	28,46*	±	4,74	0,012

Tabelle 21: Fettsäurezusammensetzung in der Phospholipidfraktion von arteriellem Nabelschnurblut von Neugeborenen 8 gesunder Probandinnen (K_NeoA) und 9 Probandinnen mit DM (GDM_NeoA) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ_n sind in der Tabelle angegeben.

In der Phospholipidfraktion des venösen Blutes ergab sich ein signifikanter Unterschied für den Gesamtanteil der Fettsäuren im Blutplasma. Hier ergab sich ein Mittelwert von 55,66 mg/dl \pm 8,66 % für die Kontrollgruppe verglichen mit einem signifikant niedrigeren Anteil von 28,46 mg/dl \pm 0,012 % in der Fallgruppe ($p = 0,012^*$). Die restlichen Anteile waren nicht signifikant verschieden in beiden Gruppen.

3.3.1.2 Triglyzeride

12h vor der Geburt	K_Maternal			GDM_Maternal			P-Wert
Triglyzeride (%wt/wt)	MW	\pm	σ_n	MW	\pm	σ_n	
PA 16:0	32,06	\pm	1,09	32,77	\pm	0,82	0,603
OA 18:1(n-9)	34,86	\pm	0,94	35,59	\pm	1,85	0,736
LA 18:2(n-6)	14,03	\pm	1,24	12,19	\pm	0,60	0,188
AA 20:4(n-6)	0,79	\pm	0,06	0,61	\pm	0,08	0,086
DHA 22:6(n-3)	0,45	\pm	0,08	0,35	\pm	0,06	0,322
Total PUFA	17,45	\pm	1,31	15,28	\pm	0,75	0,158
LC-PUFA	2,04	\pm	0,14	1,95	\pm	0,25	0,775
Total FA [mg/dl]	147,2	\pm	19,17	118,5	\pm	18,80	0,299

Tabelle 22: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Triglyzeridfraktion von mütterlichem Blut von 10 gesunden Probandinnen (K_Mat) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Mat). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ_n sind in der Tabelle angegeben.

In der Triglyzeridfraktion mütterlichen Blutplasmas zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Geburt lassen sich keine Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollgruppe für die Fettsäurezusammensetzung feststellen (Tabelle 22).

Triglyzeride (%wt/wt)	K_NeoV			GDM_NeoV			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	32,49	±	1,13	36,46	±	2,29	0,148
OA 18:1(n-9)	21,32	±	1,71	23,63	±	2,30	0,438
LA 18:2(n-6)	8,25	±	0,46	8,79	±	0,54	0,457
AA 20:4(n-6)	2,72	±	0,44	2,44	±	0,59	0,711
DHA 22:6(n-3)	2,20	±	0,46	1,85	±	0,31	0,536
Total PUFA	17,59	±	1,63	16,71	±	1,81	0,724
LC-PUFA	8,23	±	1,28	8,32	±	1,51	0,963
Total FA [mg/dl]	12,88	±	1,72	16,26	±	5,60	0,585

Tabelle 23: Fettsäurezusammensetzung in der Triglyzeridfraktion von venösem Nabelschnurblut von Neugeborenen 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In venösem Nabelschnurblut waren in der Triglyzeridfraktion ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ausmachbar zwischen Fall- und Kontrollgruppe (Tabelle 23).

Triglyzeride (%wt/wt)	K_NeoA			GDM_NeoA			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	33,50	±	0,92	36,44	±	1,98	0,197
OA 18:1(n-9)	21,50	±	2,48	21,88	±	1,06	0,888
LA 18:2(n-6)	8,48	±	0,52	7,75	±	0,57	0,356
AA 20:4(n-6)	2,64	±	0,48	4,16	±	0,76	0,108
DHA 22:6(n-3)	1,93	±	0,43	1,84	±	0,35	0,864
Total PUFA	17,14	±	1,67	18,74	±	1,93	0,541
LC-PUFA	7,83	±	1,41	10,20	±	1,59	0,262
Total FA [mg/dl]	18,55	±	3,43	7,85*	±	1,64	0,013

Tabelle 24: Fettsäurezusammensetzung in der Triglyzeridfraktion von arteriellem Nabelschnurblut von Neugeborenen 9 gesunder Probandinnen (K_NeoA) und 9 Probandinnen mit DM (GDM_NeoA) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Triglyzeridfraktion des arteriellen Nabelschnurblutes von Neugeborenen beider getesteten Gruppen zeigte sich eine signifikant niedrigere Gesamtmenge von Fettsäuren in Nabelschnurblut der GDM-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe

(7,85 mg/dl \pm 1,64 vs. 18,55 mg/dl \pm 3,43; p = 0,013*) (Tabelle 24). Beim Vergleich aller anderen einzelnen Fettsäure-Anteile ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

3.3.1.3 Cholesterinester

12h vor der Geburt	K_Mat			GDM_Mat			P-Wert
Cholesterinester (%wt/wt)	MW	\pm	σ_n	MW	\pm	σ_n	
PA 16:0	13,33	\pm	0,17	13,78	\pm	0,43	0,365
OA 18:1(n-9)	20,92	\pm	0,76	20,77	\pm	0,60	0,883
LA 18:2(n-6)	47,98	\pm	1,26	47,08	\pm	1,05	0,587
AA 20:4(n-6)	6,09	\pm	0,24	6,66	\pm	0,47	0,311
DHA 22:6(n-3)	0,48	\pm	0,11	0,37	\pm	0,11	0,502
Total PUFA	57,80	\pm	1,23	57,56	\pm	1,17	0,892
LC-PUFA	8,13	\pm	0,26	8,86	\pm	0,62	0,308
Total FA [mg/dl]	120,4	\pm	9,42	101,7	\pm	6,71	0,117

Tabelle 25: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Cholesterinesterfraktion von mütterlichem Blut von 10 gesunden Probandinnen (K_Mat) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Mat). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Cholesterinesterfraktion mütterlichen Blutplasmas zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Geburt waren keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden getesteten Gruppen ausmachbar (Tabelle 25).

Cholesterinester (%wt/wt)	K_NeoV			GDM_NeoV			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	27,26	±	2,92	24,28	±	1,69	0,377
OA 18:1(n-9)	24,31	±	1,56	24,87	±	1,67	0,809
LA 18:2(n-6)	14,51	±	0,71	18,57	±	2,56	0,159
AA 20:4(n-6)	9,31	±	1,32	10,97	±	0,77	0,281
DHA 22:6(n-3)	0,72	±	0,13	0,87	±	0,11	0,362
Total PUFA	26,79	±	2,15	33,61	±	2,44	0,052
LC-PUFA	12,47	±	1,15	14,05	±	0,95	0,301
Total FA [mg/dl]	22,78	±	2,49	20,91	±	3,78	0,691

Tabelle 26: Fettsäurezusammensetzung in der Cholesterinesterfraktion von venösem Nabelschnurblut von Neugeborenen 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Cholesterinesterfraktion venösen Nabelschnurblutes war die Fettsäurezusammensetzung beider untersuchter Gruppen sehr ähnlich. Lediglich die Werte für Total PUFA waren in beiden Gruppen unterschiedlich mit einem P-Wert von 0,052. In der Signifikanztestung konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede erhoben werden (Tabelle 26).

Cholesterinester (%wt/wt)	K_NeoA			GDM_NeoA			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	24,16	±	0,82	26,60	±	2,47	0,363
OA 18:1(n-9)	24,47	±	1,00	25,53	±	1,43	0,550
LA 18:2(n-6)	16,44	±	1,79	15,65	±	1,30	0,727
AA 20:4(n-6)	10,52	±	0,88	11,45	±	1,31	0,563
DHA 22:6(n-3)	0,85	±	0,09	0,92	±	0,18	0,735
Total PUFA	31,21	±	2,28	31,56	±	2,07	0,911
LC-PUFA	13,77	±	1,12	15,14	±	1,31	0,435
Total FA [mg/dl]	26,66	±	2,91	13,10**	±	2,48	0,003

Tabelle 27: Fettsäurezusammensetzung in der Cholesterinesterfraktion von arteriellem Nabelschnurblut von Neugeborenen 9 gesunder Probandinnen (K_NeoA) und 9 Probandinnen mit DM (GDM_NeoA) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. In der Cholesterinesterfraktion arteriellen Nabelschnurblutes war ein signifikanter Unterschied in der Gesamtkonzentration der

Fettsäuren ausmachbar. Während im Blut der Kontrollgruppe $26,66 \pm 2,91$ mg/dl zu messen war, zeigt die GDM-Gruppe lediglich eine Konzentration von $13,10 \pm 2,48$ mg/dl ($p = 0,003^{**}$). Die Einzelanteile der gemessenen Fettsäuren waren nicht signifikant verschieden (Tabelle 27).

3.3.1.4 Freie Fettsäuren

12h vor der Geburt	K_Mat			GDM_Mat			P-Wert
Freie Fettsäuren (%wt/wt)	MW	±	σ_n	MW	±	σ_n	
PA 16:0	34,33	±	1,52	34,10	±	1,94	0,927
OA 18:1(n-9)	20,99	±	2,49	23,25	±	2,44	0,527
LA 18:2(n-6)	9,16	±	0,87	9,95	±	0,66	0,478
AA 20:4(n-6)	1,00	±	0,21	1,64	±	0,51	0,275
DHA 22:6(n-3)	0,40	±	0,07	0,73	±	0,21	0,164
Total PUFA	12,83	±	1,27	15,61	±	1,09	0,109
LC-PUFA	2,80	±	0,41	4,74	±	0,91	0,075
Total FA [mg/dl]	12,99	±	1,92	13,62	±	1,50	0,798

Tabelle 28: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Fraktion der freien Fettsäuren von mütterlichem Blut von 10 gesunden Probandinnen (K_Mat) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Mat). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Cholesterinesterfraktion mütterlichen Blutes zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Geburt ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Fettsäurezusammensetzung beider Gruppen (Tabelle 28).

Freie Fettsäuren (%wt/wt)	K_NeoV			GDM_NeoV			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	40,46	±	3,27	42,09	±	1,78	0,658
OA 18:1(n-9)	4,95	±	2,02	7,68	±	2,19	0,374
LA 18:2(n-6)	4,23	±	1,40	3,72	±	1,25	0,787
AA 20:4(n-6)	0,42	±	0,17	1,44	±	0,45	0,055
DHA 22:6(n-3)	0,26	±	0,14	0,64	±	0,16	0,090
Total PUFA	8,15	±	2,06	12,32	±	1,32	0,098
LC-PUFA	2,48	±	0,95	7,08**	±	0,85	0,002
Total FA [mg/dl]	6,89	±	1,32	5,00	±	1,08	0,276

Tabelle 29: Fettsäurezusammensetzung in der Fraktion der freien Fettsäuren von venösem Nabelschnurblut von Neugeborenen 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Fraktion der freien Fettsäuren in venösem Nabelschnurblutplasma ergab sich ein signifikant höherer Anteil an LC-PUFA in der GDM-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe ($7,09 \pm 0,85$ % vs. $2,48 \pm 0,95$ %, $p = 0,002^{**}$) (Tabelle 29). Die Verteilung der einzelnen Fettsäuren war jedoch nicht signifikant verschieden.

Freie Fettsäuren (%wt/wt)	K_NeoA			GDM_NeoA			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	35,05	±	2,37	46,54**	±	2,58	0,0047
OA 18:1(n-9)	11,22	±	3,09	2,77*	±	1,36	0,024
LA 18:2(n-6)	8,61	±	1,71	2,82**	±	0,80	0,007
AA 20:4(n-6)	2,44	±	1,13	0,47	±	0,14	0,102
DHA 22:6(n-3)	0,86	±	0,49	0,32	±	0,19	0,317
Total PUFA	15,19	±	3,71	6,14*	±	1,27	0,035
LC-PUFA	5,57	±	2,22	3,22	±	1,18	0,362
Total FA [mg/dl]	11,59	±	2,43	1,96***	±	0,38	0,0008

Tabelle 30: Fettsäurezusammensetzung in der Fraktion der freien Fettsäuren von arteriellem Nabelschnurblut von Neugeborenen 9 gesunder Probandinnen (K_NeoA) und 9 Probandinnen mit DM (GDM_NeoA) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Fraktion der freien Fettsäuren des arteriellen Nabelschnurbluts ergaben sich mehrere signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Der Anteil der Palmitinsäure, Ölsäure und Linolsäure sowie der Gesamtanteil von LC-PUFA war in der

GDM-Gruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe. PA war in der GDM-Gruppe mit einem Anteil von $46,54 \pm 2,58$ % vertreten gegenüber $35,05 \pm 2,37$ % ($p = 0,00047^{***}$) in der Kontrollgruppe. Dieser Unterschied war hochsignifikant. Der Anteil von Ölsäure betrug in der GDM-Gruppe $2,77 \pm 1,36$ % verglichen mit $11,22 \pm 3,09$ % ($p = 0,024^*$) in der Kontrollgruppe. Im Vergleich der Anteile von LA in beiden Gruppen ergab sich ein signifikant höherer Anteil in der Kontrollgruppe von $8,61 \pm 1,71$ % im Gegensatz zu $2,82 \pm 0,80$ % ($p = 0,007^{**}$) in der GDM-Gruppe. Die Anteile der LC-PUFA Arachidonsäure und DHA waren nicht signifikant verschieden. Bei Betrachtung des Gesamtanteils von PUFA ergab sich ein Wert von $15,19 \pm 3,71$ % in der Kontrollgruppe verglichen mit $6,14 \pm 1,27$ % ($p = 0,035$) in der GDM-Gruppe. Auch die Gesamtkonzentration aller Fettsäuren war in beiden Gruppen signifikant verschieden. Hierfür ergab sich ein Wert von $11,59 \pm 2,43$ mg/dl in der Kontrollgruppe verglichen mit $1,96 \pm 0,38$ mg/dl ($p = 0,0008^{***}$) in der GDM-Gruppe.

3.3.1.5 Totale Fettsäureverteilung in den verschiedenen Lipidkompartimenten PL, TG, CE und NEFA

	Vor Tracergabe C (mg/dl)			
	K_Mat	%	GDM_Mat	%
PL	172,9	38,13	141,1	37,63
TG	147,2	32,46	118,5	31,61
CE	120,4	26,55	101,7	27,13
NEFA	12,99	2,86	13,62	3,63
Summe	453,49	100,00	374,92	100,00

Tabelle 31: Die Mittelwerte absoluter FS-Konzentrationen im mütterlichen Blutplasma vor Tracergabe der Fall- und Kontrollgruppe. Die Konzentrationen sind in mg/dl. K_Mat bezieht sich auf mütterliches Blutplasma in der Kontrollgruppe und GDM_Mat auf die Fallgruppe. Prozentuale Anteile der FS in den verschiedenen Kompartimenten PL, TG, CE und NEFA in %.

Im mütterlichen Blutplasma ergeben sich zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Sectio folgende prozentuale Fettsäureverteilungen in den verschiedenen Lipidkompartimenten: In der Kontrollgruppe lassen sich 38,13 % der Fettsäuren in der Phospholipidfraktion finden, 32,46 % sind in der Triglyzeridfraktion vorzufinden und 26,55 % der Fettsäuren befinden sich in der Cholesterinesterfraktion. Lediglich ein Anteil von 2,86 % befindet sich in nicht veresterten freien Fettsäuren. In der Fallgruppe lassen sich ähnliche prozentuale Verteilungen feststellen: PL 37,63 %, TG 31,61 %, CE 27,13 % und NEFA 3,63 % (Tabelle 31).

	NeoVene C (mg/dl)				NeoArterie C (mg/dl)			
	K	%	GDM	%	K	%	GDM	%
PL	51,38	54,70	47,79	53,12	55,66	49,49	28,46*	55,40
TG	12,88	13,71	16,26	18,07	18,55	16,49	7,85*	15,28
CE	22,78	24,25	20,91	23,24	26,66	23,71	13,1**	25,50
NEFA	6,89	7,34	5,00	5,56	11,59	10,31	1,96***	3,82
Summe	93,93	100,00	89,96	100,00	112,46	100,00	51,37	100,00

Tabelle 32: Die Mittelwerte absoluter FS-Konzentrationen im venösen und arteriellen Nabelschnurblut (NeoVene und NeoArterie) der Fall- und Kontrollgruppe K und GDM in mg/dl. Prozentuale Anteile der FS in den verschiedenen Kompartimenten PL, TG, CE und NEFA in %.

Im venösen Nabelschnurblut ergaben sich folgende prozentuale Fettsäureverteilungen in den verschiedenen Lipidkompartimenten: In der Kontrollgruppe ließen sich 54,70 % der Fettsäuren in der Phospholipidfraktion finden, 24,25 % waren in der Cholesterinesterfraktion vorzufinden und 13,71 % der Fettsäuren befanden sich in der Triglyzeridfraktion. Lediglich ein Anteil von 7,34 % befand sich in nicht veresterten freien Fettsäuren. In der Fallgruppe ließen sich ähnliche prozentuale Verteilungen feststellen: PL 53,12 %, CE 23,24 % TG 18,07 %, und NEFA 5,56 %. Im arteriellen Nabelschnurblut ließen sich folgende Unterschiede feststellen: Fall- und Kontrollgruppe verhielten sich hier nicht gleich. Der Anteil an FS in den Phospholipiden war in der Fallgruppe signifikant höher als in der Kontrollgruppe GDM 55,40 %, K 49,49 %, absolut K 55,66 mg/dl, GDM 28,46* mg/dl, $p = 0,012$. In der zweitgrößten Fraktion, den Cholesterinestern, verhielten sich die prozentualen Anteile recht ähnlich K 23,71 % zu GDM 25,50 %. Betrachtete man jedoch die absolute Konzentration der FS in den Cholesterinestern, dann befanden sich bei der Kontrollgruppe 26,66 mg/dl im CE-Kompartiment, in der Fallgruppe nur 13,1 mg/dl**, $p = 0,003$. In der Triglyzeridfraktion hatten beide Gruppen prozentual gesehen einen ähnlichen Anteil ihrer FS untergebracht K 16,49 % zu GDM 15,28 %. Auch hier zeigte sich bei der Betrachtung der Konzentrationen ein anderes Bild. Hier betrug die Konzentration in der Kontrollgruppe 18,55 mg/dl, während sie in der Fallgruppe nur 7,85 mg/dl*, $p = 0,013$ FS in Cholesterinestern betrug. Die Unterschiede in den nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA) zwischen beiden Gruppen waren ebenso auffällig. In prozentualen Anteilen befanden sich in der Kontrollgruppe 10,31 % der FS in NEFA, während die Fallgruppe nur einen Anteil von 3,82 % ihrer FS in der NEFA-Fraktion hatte. In Konzentrationen bedeutete dies, dass die Konzentration in der Kontrollgruppe 11,59 mg/dl betrug, wohingegen sie in der Fallgruppe lediglich bei 1,96 mg/dl ***, $p = 0,0008$ lag (Tabelle 32).

	K_Plaz C (mg/dl)	%	GDM_Plaz C (mg/dl)	%
Phospholipide	307,4	86,02	295,9	87,93
Triglyzeride	12,06	3,37	10,05	2,99
Cholesterinester	9,00	2,52	9,00	2,67
Freie Fettsäuren	28,9	8,09	21,58	6,41
Summe	357,36	100	336,53	100

Tabelle 33: Die Mittelwerte absoluter FS-Konzentrationen in der Plazenta von Fall- und Kontrollgruppe K_Plaz und Fallgruppe GDM_Plaz in mg/dl. Prozentuale Anteile der FS in den verschiedenen Kompartimenten PL, TG, CE und NEFA in %.

Im Plazentagewebe befand sich der größte Anteil der Fettsäuren in den Phospholipiden mit K 86,02 % zu GDM 87,93 %. Die restlichen FS verteilten sich auf NEFA K = 8,09 % zu GDM 6,41 %, Triglyzeride K = 3,37 % zu GDM 2,99 % und Cholesterinester K = 2,52 % zu GDM 2,67 %. Beide Patientengruppen unterschieden sich in diesen Verteilungen nicht signifikant (Tabelle 33).

3.3.2 Fettsäure-Zusammensetzung der Plazenta

Phospholipide (%wt/wt)	K_Plaz			GDM_Plaz			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	27,91	±	0,89	26,85	±	0,39	0,272
OA 18:1(n-9)	8,17	±	0,15	9,16**	±	0,21	0,001
LA 18:2(n-6)	8,82	±	0,36	9,50	±	0,42	0,236
AA 20:4(n-6)	21,78	±	0,72	21,52	±	0,62	0,785
DHA 22:6(n-3)	4,68	±	0,29	4,71	±	0,29	0,948
Total PUFA	43,13	±	1,33	43,31	±	0,67	0,899
LC-PUFA	33,97	±	1,07	33,38	±	0,72	0,651
Total FA [mg/dl]	307,4	±	47,00	295,9	±	30,74	0,837

Tabelle 34: Fettsäurezusammensetzung in der Phospholipidfraktion von Plazentagewebe 10 gesunder Probandinnen (K_Plaz) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Plaz). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Phospholipidfraktion von Plazentagewebe zeigte sich ein signifikanter Unterschied im Anteil der Ölsäure zwischen Kontrollgruppe ($8,17 \pm 0,15$ %) und Fallgruppe ($9,16 \pm 0,21$ %; $p = 0,001^{**}$) (Tabelle 34). Die Anteile der übrigen Fettsäuren waren in beiden Gruppen nicht signifikant verschieden.

Triglyzeride (%wt/wt)	K_Plaz			GDM_Plaz			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	29,30	±	1,33	28,63	±	1,63	0,755
OA 18:1(n-9)	13,57	±	1,24	16,06	±	0,87	0,112
LA 18:2(n-6)	8,62	±	0,85	10,63	±	0,65	0,074
AA 20:4(n-6)	8,85	±	1,22	9,80	±	1,10	0,568
DHA 22:6(n-3)	4,51	±	0,39	4,91	±	0,73	0,643
Total PUFA	30,43	±	2,28	33,49	±	1,94	0,318
LC-PUFA	21,07	±	1,63	22,01	±	1,70	0,695
Total FA [mg/dl]	12,06	±	2,22	10,05	±	1,44	0,449

Tabelle 35: Fettsäurezusammensetzung in der Triglyzeridfraktion von Plazentagewebe 10 gesunder Probandinnen (K_Plaz) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Plaz). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Triglyzeridfraktion von Plazentagewebe zeigte sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung der einzelnen Fettsäuren in beiden Gruppen (Tabelle 35). Auch der Anteil an PUFAs und LC-PUFAs gesamt war in beiden Gruppen vergleichbar.

Cholesterinester (%wt/wt)	K_Plaz			GDM_Plaz			P-Wert
	MW	±	σ_n	MW	±	σ_n	
PA 16:0	19,33	±	1,30	17,74	±	1,31	0,401
OA 18:1(n-9)	16,65	±	1,82	17,15	±	1,63	0,839
LA 18:2(n-6)	28,66	±	3,28	27,55	±	3,25	0,812
AA 20:4(n-6)	6,98	±	0,98	7,17	±	0,86	0,882
DHA 22:6(n-3)	1,71	±	0,28	1,67	±	0,22	0,906
Total PUFA	43,89	±	4,32	44,62	±	3,77	0,900
LC-PUFA	13,59	±	1,19	13,77	±	1,21	0,916
Total FA [mg/dl]	12,01	±	2,41	9,00	±	1,18	0,262

Tabelle 36: Fettsäurezusammensetzung in der Cholesterinesterfraktion von Plazentagewebe 10 gesunder Probandinnen (K_Plaz) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Plaz). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Cholesterinesterfraktion von Plazentagewebe waren die Anteile der einzelnen Fettsäuren in beiden untersuchten Gruppen nicht signifikant verschieden (Tabelle 36).

Freie Fettsäuren (%wt/wt)	K_Plaz			GDM_Plaz			P-Wert
	MW	±	σ_n	MW	±	σ_n	
PA 16:0	27,86	±	1,63	28,26	±	1,58	0,864
OA 18:1(n-9)	8,19	±	0,67	9,84	±	0,92	0,172
LA 18:2(n-6)	8,13	±	0,39	8,61	±	0,49	0,462
AA 20:4(n-6)	12,99	±	1,88	14,56	±	2,10	0,587
DHA 22:6(n-3)	2,97	±	0,48	2,93	±	0,48	0,957
Total PUFA	29,93	±	2,76	31,38	±	3,52	0,753
LC-PUFA	21,38	±	2,84	22,35	±	3,17	0,823
Total FA [mg/dl]	28,90	±	6,43	21,58	±	3,14	0,305

Tabelle 37: Fettsäurezusammensetzung in der Fraktion freier Fettsäuren von Plazentagewebe 10 gesunder Probandinnen (K_Plaz) und 11 Probandinnen mit DM (GDM_Plaz). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

Die Fraktion der freien Fettsäuren im Plazentagewebe beider Gruppen zeigte keine berechenbaren Unterschiede (Tabelle 37). Die untersuchten Fettsäuren verhielten sich in beiden Gruppen sehr ähnlich.

3.3.3 Fettsäure-Zusammensetzung der Erythrozyten

Phosphatidylcholin (% wt/wt)	K_Mat			GDM_Mat			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	35,46	±	3,97	39,86	±	0,57	0,287
OA 18:1(n-9)	15,57	±	1,76	13,17	±	2,21	0,405
LA 18:2(n-6)	19,98	±	0,83	19,54	±	1,22	0,767
ALA 18:3(n-3)	0,30	±	0,04	0,22	±	0,03	0,070
AA 20:4(n-6)	4,99	±	0,24	6,62	±	1,07	0,152
DHA 22:6(n-3)	1,14	±	0,29	1,54	±	0,31	0,351
Σ Omega-6	28,66	±	0,96	29,55	±	0,43	0,411
Σ Omega-3	2,46	±	0,22	2,45	±	0,22	0,970

Tabelle 38: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylcholinfraktion in Erythrozyten aus mütterlichem Blut 10 gesunder Probandinnen (K_Mat) und 10 Probandinnen mit DM (GDM_Mat) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

In der Phosphatidylcholinfraktion in Erythrozyten aus mütterlichem Blut konnte kein signifikanter Unterschied in der Fettsäureverteilung zwischen beiden getesteten Gruppen festgestellt werden (Tabelle 38). Auch die Summe der Omega-6- und Omega-3-Fettsäuren war in beiden Gruppen nicht signifikant verschieden.

Phosphatidylethanolamin (% wt/wt)	K_Mat			GDM_Mat			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	17,23	±	1,90	17,38	±	1,91	0,957
OA 18:1(n-9)	15,38	±	1,74	16,10	±	1,89	0,782
LA 18:2(n-6)	4,64	±	0,51	4,25	±	0,52	0,599
ALA 18:3(n-3)	0,17	±	0,01	0,16	±	0,02	0,617
AA 20:4(n-6)	17,41	±	2,03	14,21	±	2,85	0,373
DHA 22:6(n-3)	4,41	±	1,47	5,76	±	1,59	0,540
Σ Omega-6	33,71	±	0,78	32,11	±	3,41	0,670
Σ Omega-3	11,68	±	1,20	14,39	±	2,86	0,393

Tabelle 39: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus mütterlichem Blut 10 gesunder Probandinnen (K_Mat) und 10 Probandinnen mit DM (GDM_Mat) zum Zeitpunkt der Geburt. Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt.

Die Verteilung der Fettsäuren in der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus mütterlichem Blut war in beiden getesteten Gruppen sehr ähnlich (Tabelle 39). Es wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden. Die Summe der Omega-6-Fettsäuren und Omega-3-Fettsäuren war ebenfalls in beiden Gruppen nicht signifikant verschieden.

Phosphatidylcholin (% wt/wt)	K_NeoV			GDM_NeoV			P-Wert
	MW	±	σ_n	MW	±	σ_n	
PA 16:0	37,56	±	2,33	39,11	±	0,68	0,495
OA 18:1(n-9)	14,7	±	0,53	15,79	±	0,25	0,065
LA 18:2(n-6)	6,95	±	0,72	8,07	±	0,48	0,199
ALA 18:3(n-3)	0,02	±	0	0,03	±	0,01	0,122
AA 20:4(n-6)	14,69	±	1,48	12,31	±	0,47	0,113
DHA 22:6(n-3)	3,27	±	1,06	2,51	±	0,33	0,469
Σ Omega-6	27,59	±	1,75	25,56	±	0,48	0,236
Σ Omega-3	4,53	±	1,02	3,35	±	0,21	0,229

Tabelle 40: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylcholinfraktion in Erythrozyten aus venösem Nabelschnurblut 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 10 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ_n sind in der Tabelle angegeben.

Im venösen Nabelschnurblut ergaben sich in der Phosphatidylcholinfraktion der Erythrozyten keine signifikanten Unterschiede zwischen Fall- und Kontrollgruppe (Tabelle 40).

Phosphatidylethanolamin (% wt/wt)	K_NeoV			GDM_NeoV			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	20,7	±	2,23	21,72	±	0,56	0,647
OA 18:1(n-9)	9,99	±	1,16	11,99	±	0,52	0,12
LA 18:2(n-6)	1,94	±	0,29	2,11	±	0,17	0,604
ALA 18:3(n-3)	0,02	±	0,01	0,01	±	0	0,686
AA 20:4(n-6)	20,68	±	2,6	24,61	±	0,57	0,139
DHA 22:6(n-3)	5,4	±	1,51	8,03	±	0,87	0,138
Σ Omega-6	36,89	±	1,61	38,55	±	0,69	0,339
Σ Omega-3	8,9	±	1,05	10,08	±	0,45	0,297

Tabelle 41: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus venösem Nabelschnurblut 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 10 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ sind in der Tabelle angegeben.

Die statistische Testung der Fettsäureverteilung in der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus venösem Nabelschnurblut beider Gruppen ergab keine signifikanten Unterschiede (Tabelle 41).

Phosphatidylcholin (% wt/wt)	K_NeoA			GDM_NeoA			P-Wert
	MW	±	σ _n	MW	±	σ _n	
PA 16:0	36,10	±	3,01	39,68	±	0,83	0,290
OA 18:1(n-9)	12,37	±	1,78	15,53	±	0,34	0,117
LA 18:2(n-6)	5,9	±	0,89	9,23	±	1,95	0,125
ALA 18:3(n-3)	0	±	0	0,05	±	0,04	0,261
AA 20:4(n-6)	11,66	±	0,71	11,77	±	0,79	0,91
DHA 22:6(n-3)	1,76	±	0,5	2,15	±	0,46	0,581
Σ Omega-6	22,72	±	1,66	25,79	±	1,13	0,152
Σ Omega-3	3,49	±	0,28	3,28	±	0,32	0,619

Tabelle 42: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylcholinfraktion in Erythrozyten aus arteriellem Nabelschnurblut 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 10 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ sind in der Tabelle angegeben.

Phosphatidylethanolamin (% wt/wt)	K_NeoA			GDM_NeoA			P-Wert
	MW	±	σ_n	MW	±	σ_n	
PA 16:0	25,3	±	2,46	21,94	±	0,8	0,232
OA 18:1(n-9)	12,1	±	0,56	11,91	±	0,34	0,778
LA 18:2(n-6)	3,16	±	0,77	2,16	±	0,14	0,239
ALA 18:3(n-3)	0,01	±	0	0,01	±	0	0,764
AA 20:4(n-6)	22,5	±	1,54	24,28	±	0,46	0,334
DHA 22:6(n-3)	4,03	±	1,32	6,95	±	1,37	0,142
Σ Omega-6	36,18	±	1,74	37,77	±	0,78	0,434
Σ Omega-3	8,68	±	0,93	9,86	±	0,45	0,284

Tabelle 43: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus arteriellem Nabelschnurblut 10 gesunder Probandinnen (K_NeoV) und 10 Probandinnen mit DM (GDM_NeoV). Mittels Gas-Chromatographie wurde die Fettsäurezusammensetzung in (%wt/wt) ermittelt. Mittelwerte MW und Standardfehler σ_n sind in der Tabelle angegeben.

3.4 Tracer-Messungen

3.4.1 Tracer-Konzentrationen in Phospholipiden

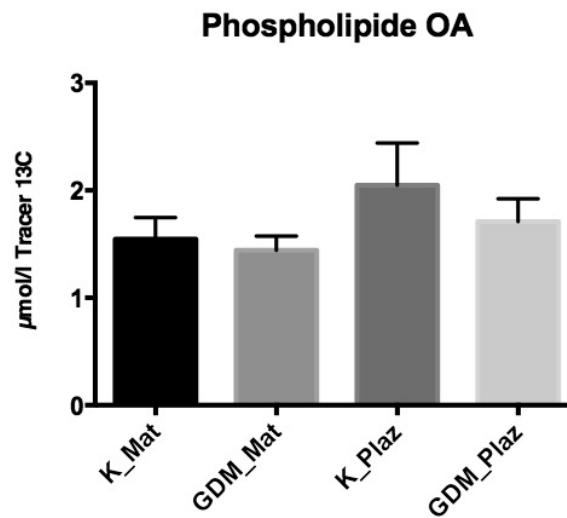


Abbildung 15: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in Phospholipiden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer ^{13}C abgebildet. Mittels Massenspektrometrie wurde die Konzentration des Tracers der Proben ermittelt. P-Werte wurden mittels t-test errechnet. Ab einem $p < 0,05$ wurde von statistischer Signifikanz ausgegangen. Statistisch signifikante Ergebnisse sind mit einem Sternchen markiert.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Ölsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in den Phospholipiden ergab einen p-Wert von $p = 0,671$ mit den Mittelwerten $\bar{x}(\text{K_Mat}) = 1,554$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_Mat}) = \pm 0,201$ sowie $\bar{x}(\text{GDM_Mat}) = 1,442$ und $\sigma(\text{GDM_Mat}) = \pm 0,132$.

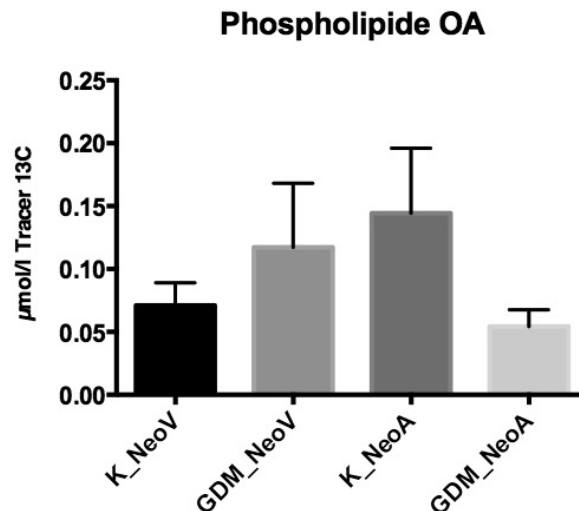


Abbildung 16: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in Phospholipiden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben aufgezeichnet. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer ^{13}C abgebildet. Mittels Massenspektrometrie wurde die Konzentration des Tracers der Proben ermittelt.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von 0,410 mit den Mittelwerten $\chi(\text{K_NeoV}) = 0,064$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_NeoV}) = \pm 0,022$ sowie $\chi(\text{GDM_NeoV}) = 0,116$ und $\sigma(\text{GDM_NeoV}) = \pm 0,051$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,117$ mit den Mittelwerten $\chi(\text{K_NeoA}) = 0,144$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_NeoA}) = \pm 0,052$ sowie $\chi(\text{GDM_NeoA}) = 0,054$ und $\sigma(\text{GDM_NeoA}) = \pm 0,013$ berechnen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,447$ mit den Mittelwerten $\chi(\text{K_Plaz}) = 2,048$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_Plaz}) = \pm 0,393$ sowie $\chi(\text{GDM_Plaz}) = 1,710$ und $\sigma(\text{GDM_Plaz}) = \pm 0,213$.

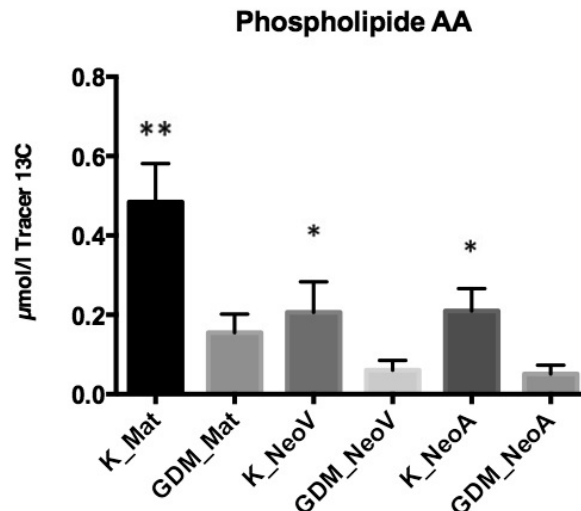


Abbildung 17: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in Phospholipiden. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Arachidonsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in den Phospholipiden ergab einen p-Wert von $p = 0,0047^{**}$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_Mat) = 0,484 und der Standardabweichung σ (K_Mat) = $\pm 0,097$ sowie \bar{x} (GDM_Mat) = 0,140 und σ (GDM_Mat) = $\pm 0,052$. Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von $p = 0,0498^*$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_NeoV) = 0,206 und der Standardabweichung σ (K_NeoV) = $\pm 0,077$ sowie \bar{x} (GDM_NeoV) = 0,055 und σ (GDM_NeoV) = $\pm 0,026$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,042^*$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_NeoA) = 0,197 und der Standardabweichung σ (K_NeoA) = $\pm 0,065$ sowie \bar{x} (GDM_NeoA) = 0,051 und σ (GDM_NeoA) = $\pm 0,022$ berechnen.

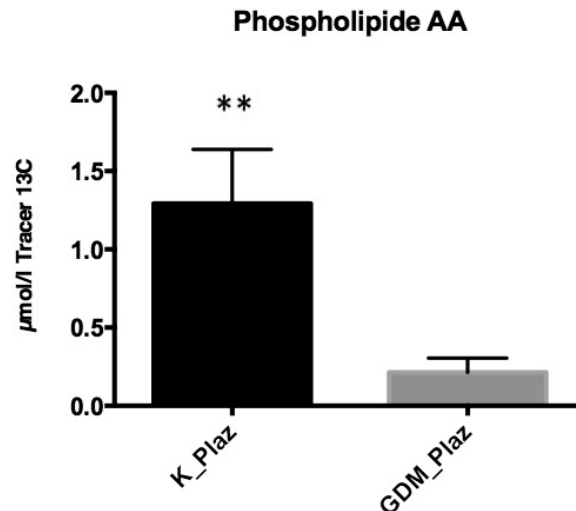


Abbildung 18: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in Phospholipiden. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,003^{**}$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_Plaz) = 1,292 und der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,347$ sowie \bar{x} (GDM_Plaz) = 0,059 und σ (GDM_Plaz) = $\pm 0,147$.

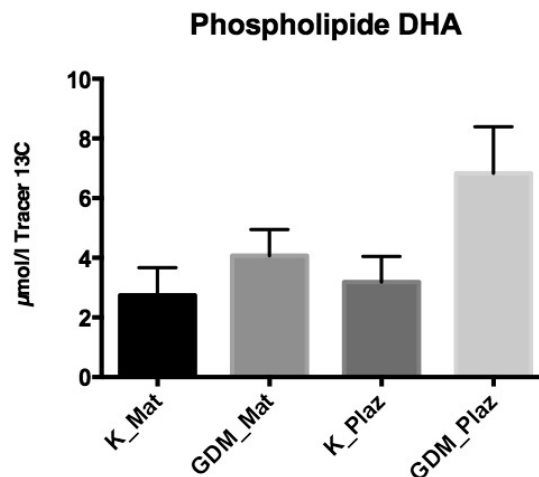


Abbildung 19: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in Phospholipiden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben markiert. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer abgebildet.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Docosahexaensäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der

Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in den Phospholipiden ergab einen p-Wert von $p = 0,312$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_Mat) = 2,741 und der Standardabweichung σ (K_Mat) = $\pm 0,927$ sowie \bar{x} (GDM_Mat) = 4,076 und σ (GDM_Mat) = $\pm 0,881$.

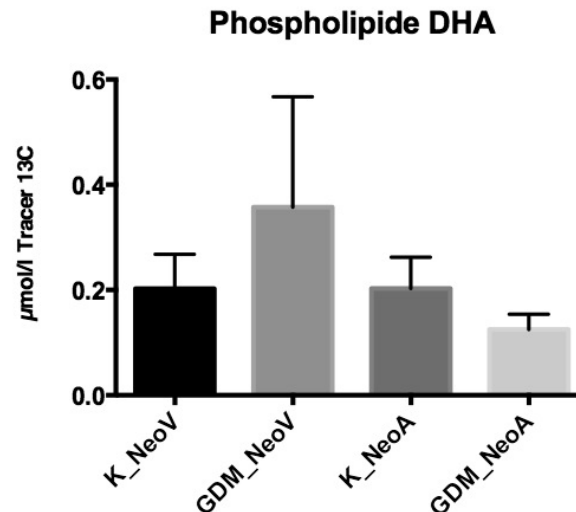


Abbildung 20: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in Phospholipiden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben markiert. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen gesunder Mütter, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen an Diabetes erkrankter Mütter. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen gesunder Mütter und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, an Diabetes erkrankter Mütter. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von 0,527 mit den Mittelwerten \bar{x} (K_NeoV) = 0,202 und der Standardabweichung σ (K_NeoV) = $\pm 0,065$ sowie \bar{x} (GDM_NeoV) = 0,357 und σ (GDM_NeoV) = $\pm 0,210$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,242$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_NeoA) = 0,203 und der Standardabweichung σ (K_NeoA) = $\pm 0,060$ sowie \bar{x} (GDM_NeoA) = 0,125 und σ (GDM_NeoA) = $\pm 0,029$ berechnen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,061$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_Plaz) = 3,183 und der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,864$ sowie \bar{x} (GDM_Plaz) = 6,830 und σ (GDM_Plaz) = $\pm 1,560$.

3.4.2 Tracer-Konzentrationen in Triglyzeriden

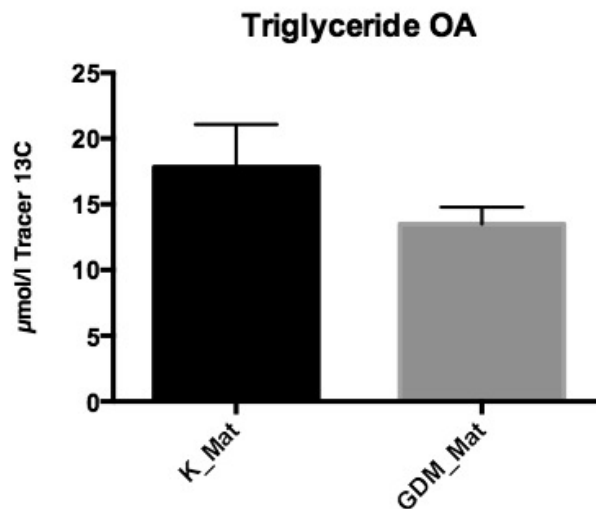


Abbildung 21: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in Triglyzeriden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer abgebildet.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Ölsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in Triglyzeriden ergab einen p-Wert von $p = 0,234$ mit den Mittelwerten $\bar{x}(\text{K_Mat}) = 17,81$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_Mat}) = \pm 3,261$ sowie $\bar{x}(\text{GDM_Mat}) = 13,49$ und $\sigma(\text{GDM_Mat}) = \pm 1,304$.

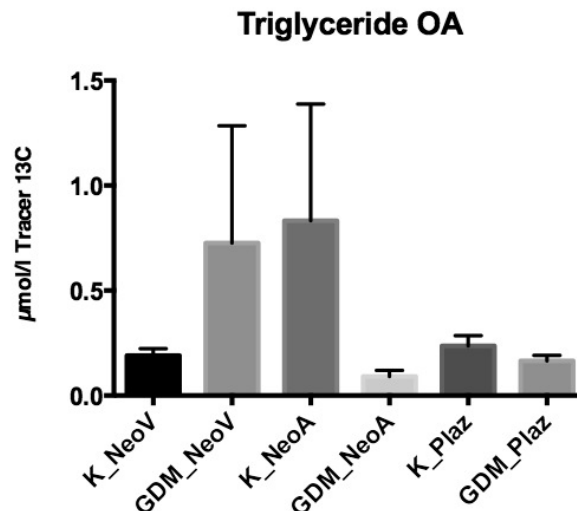


Abbildung 22: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in Triglyzeriden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen gesunder Mütter, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen an Diabetes erkrankter Mütter. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von 0,377 mit den Mittelwerten χ (K_NeoV) = 0,190 und der Standardabweichung σ (K_NeoV) = $\pm 0,033$ sowie χ (GDM_NeoV) = 0,726 und σ (GDM_NeoV) = $\pm 0,559$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,176$ mit den Mittelwerten χ (K_NeoA) = 0,833 und der Standardabweichung σ (K_NeoA) = $\pm 0,555$ sowie χ (GDM_NeoA) = 0,091 und σ (GDM_NeoA) = $\pm 0,028$ berechnen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich $p = 0,203$ mit den Mittelwerten χ (K_Plaz) = 0,236 und der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,049$ sowie χ (GDM_Plaz) = 0,165 und σ (GDM_Plaz) = $\pm 0,026$.

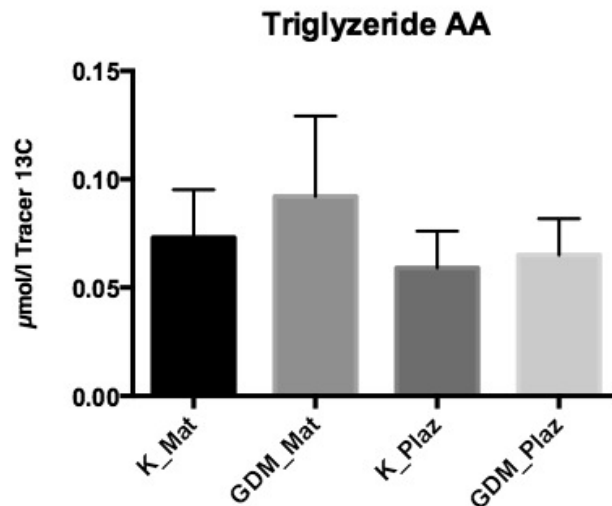


Abbildung 23: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in Triglyzeriden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von gesunden Müttern und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von an Diabetes erkrankten Müttern. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer abgebildet.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Arachidonsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in Triglyzeriden ergab einen p-Wert von $p = 0,666$ mit den Mittelwerten $\chi(\text{K_Mat}) = 0,730$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_Mat}) = \pm 0,022$ sowie $\chi(\text{GDM_Mat}) = 0,092$ und $\sigma(\text{GDM_Mat}) = \pm 0,037$. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,805$ mit den Mittelwerten $\chi(\text{K_Plaz}) = 0,059$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_Plaz}) = \pm 0,017$ sowie $\chi(\text{GDM_Plaz}) = 0,065$ und $\sigma(\text{GDM_Plaz}) = \pm 0,017$.

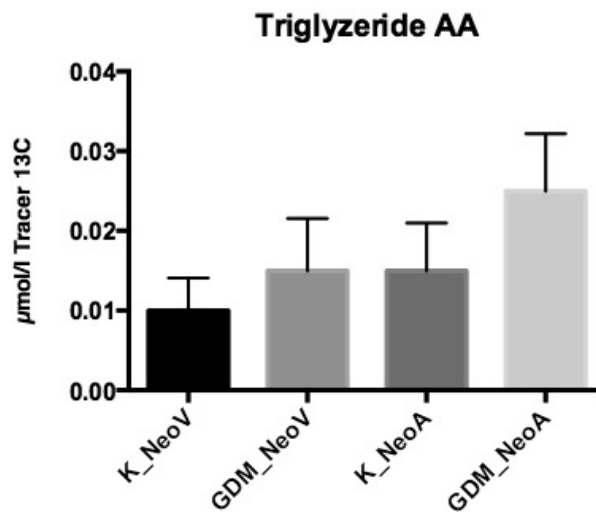


Abbildung 24: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in Triglyzeriden. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_NeoV bezieht sich dabei auf Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen gesunder Mütter, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen an Diabetes erkrankter Mütter. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer abgebildet.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von 0,517 mit den Mittelwerten $\chi(\text{K_NeoV}) = 0,010$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_NeoV}) = \pm 0,004$ sowie $\chi(\text{GDM_NeoV}) = 0,015$ und $\sigma(\text{GDM_NeoV}) = \pm 0,001$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,303$ mit den Mittelwerten $\chi(\text{K_NeoA}) = 0,015$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_NeoA}) = \pm 0,001$ sowie $\chi(\text{GDM_NeoA}) = 0,025$ und $\sigma(\text{GDM_NeoA}) = \pm 0,007$ berechnen.

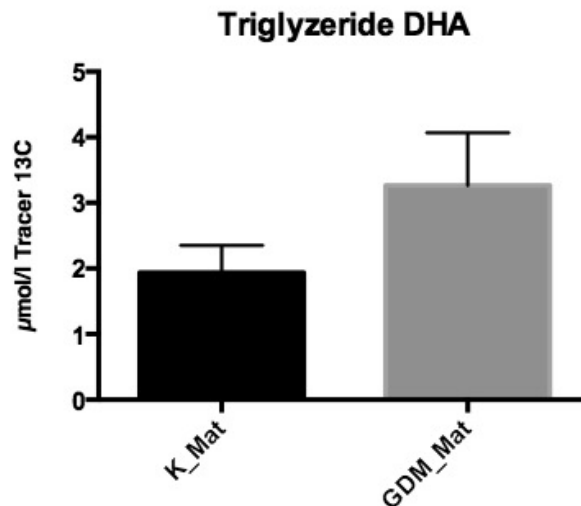


Abbildung 25: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in Triglyzeriden. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Docosahexaensäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in Triglyzeriden ergab einen p-Wert von $p = 0,1477$ mit den Mittelwerten χ (K_Mat) = 1,934 und der Standardabweichung σ (K_Mat) = $\pm 0,416$ sowie χ (GDM_Mat) = 3,264 und σ (GDM_Mat) = $\pm 0,803$.

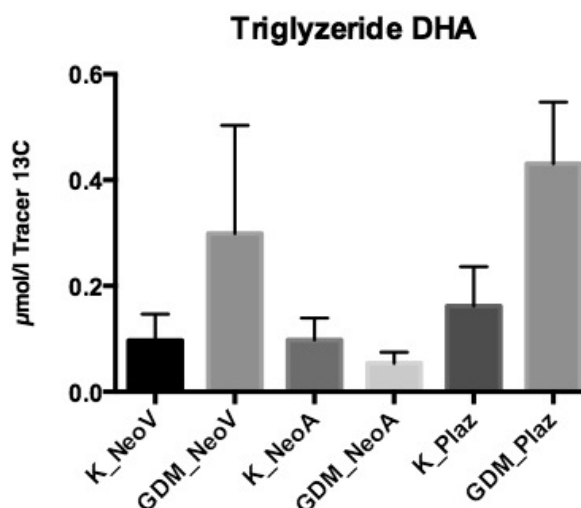


Abbildung 26: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in Triglyzeriden. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen,

deren Mütter in der Fallgruppe sind. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von $p = 0,351$ mit den Mittelwerten χ (K_NeoV) = 0,097 und der Standardabweichung σ (K_NeoV) = $\pm 0,050$ sowie χ (GDM_NeoV) = 0,299 und σ (GDM_NeoV) = $\pm 0,204$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,389$ mit den Mittelwerten χ (K_NeoA) = 0,098 und der Standardabweichung σ (K_NeoA) = $\pm 0,042$ sowie χ (GDM_NeoA) = 0,054 und σ (GDM_NeoA) = $\pm 0,021$ berechnen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,073$ mit den Mittelwerten χ (K_Plaz) = 0,162 und der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,075$ sowie χ (GDM_Plaz) = 0,431 und σ (GDM_Plaz) = $\pm 0,117$.

3.4.3 Tracer-Konzentrationen in Cholesterinestern

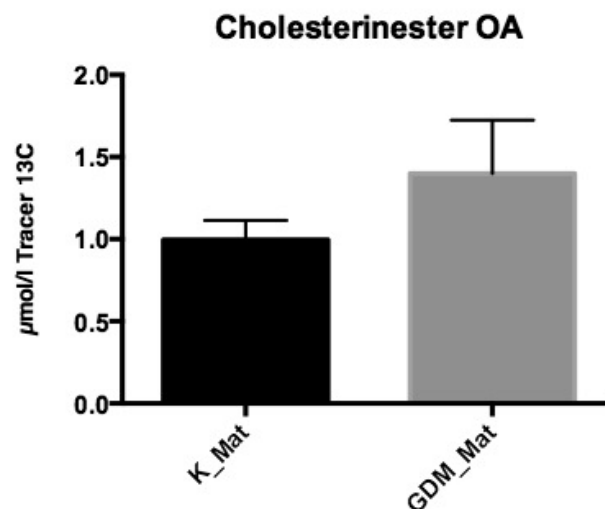


Abbildung 27: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in Cholesterinestern. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Ölsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in Cholesterinestern ergab einen p-Wert von $p = 0,370$ mit den Mittelwerten χ (K_Mat) = 0,995 und der Standardabweichung σ (K_Mat) = $\pm 0,119$ sowie χ (GDM_Mat) = 1,399 und σ (GDM_Mat) = $\pm 0,326$.

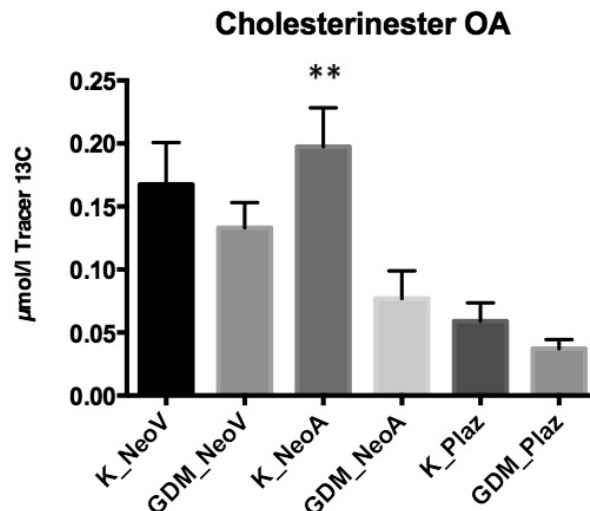


Abbildung 28: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in Cholesterinestern. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer abgebildet.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von $p = 0,367$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_NeoV) = 0,168 und der Standardabweichung σ (K_NeoV) = $\pm 0,033$ sowie \bar{x} (GDM_NeoV) = 0,133 und σ (GDM_NeoV) = $\pm 0,020$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,0048^{**}$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_NeoA) = 0,198 und der Standardabweichung σ (K_NeoA) = $\pm 0,031$ sowie \bar{x} (GDM_NeoA) = 0,077 und σ (GDM_NeoA) = $\pm 0,022$ berechnen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,182$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_Plaz) = 0,059 und der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,014$ sowie \bar{x} (GDM_Plaz) = 0,037 und σ (GDM_Plaz) = $\pm 0,007$.

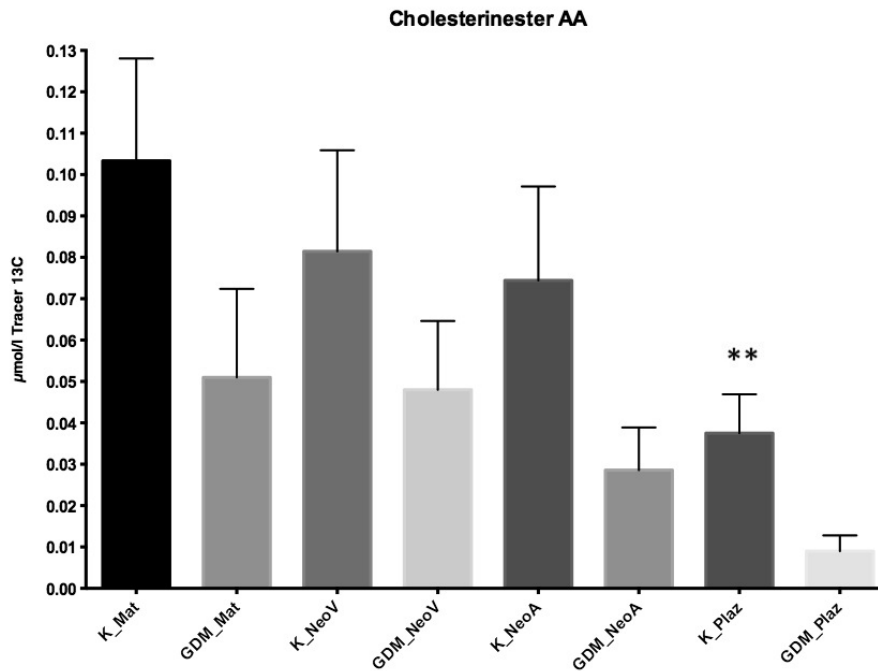


Abbildung 29: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in Cholesterinestern. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer abgebildet.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Arachidonsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in Cholesterinestern ergab einen p-Wert von $p = 0,133$ mit den Mittelwerten $\bar{x}(\text{K_Mat}) = 0,103$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_Mat}) = \pm 0,025$ sowie $\bar{x}(\text{GDM_Mat}) = 0,049$ und $\sigma(\text{GDM_Mat}) = \pm 0,022$. Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von $p = 0,259$ mit den Mittelwerten $\bar{x}(\text{K_NeoV}) = 0,081$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_NeoV}) = \pm 0,024$ sowie $\bar{x}(\text{GDM_NeoV}) = 0,048$ und $\sigma(\text{GDM_NeoV}) = \pm 0,017$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,057$ mit den Mittelwerten $\bar{x}(\text{K_NeoA}) = 0,074$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_NeoA}) = \pm 0,023$ sowie $\bar{x}(\text{GDM_NeoA}) = 0,019$ und $\sigma(\text{GDM_NeoA}) = \pm 0,008$ berechnen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,0078^{**}$ mit den Mittelwerten $\bar{x}(\text{K_Plaz}) = 0,038$ und

der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,009$ sowie χ (GDM_Plaz) = $0,009$ und σ (GDM_Plaz) = $\pm 0,004$.

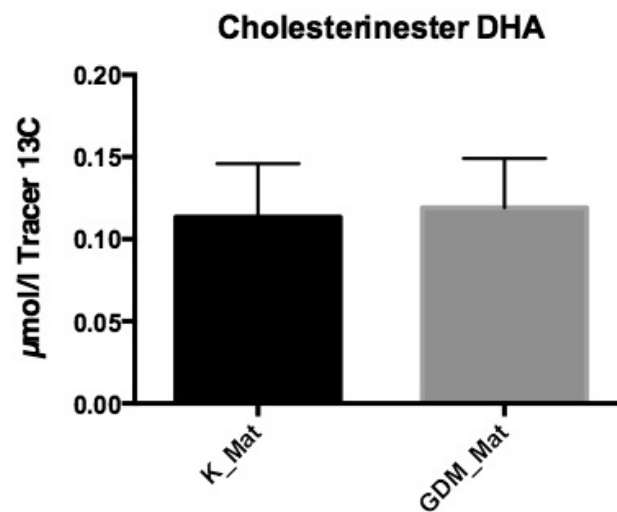


Abbildung 30: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in Cholesterinestern. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Docosahexaensäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in Cholesterinestern ergab einen p-Wert von $p=0,905$ mit den Mittelwerten χ (K_Mat) = $0,113$ und der Standardabweichung σ (K_Mat) = $\pm 0,033$ sowie χ (GDM_Mat) = $0,119$ und σ (GDM_Mat) = $\pm 0,030$.

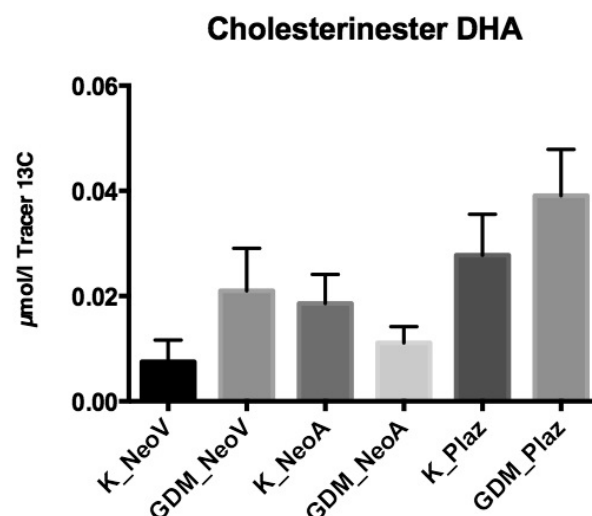


Abbildung 31: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in Cholesterinestern. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_NeoV ist

Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer aufgezeichnet.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von $p = 0,237$ mit den Mittelwerten χ (K_NeoV) = $0,008$ und der Standardabweichung σ (K_NeoV) = $\pm 0,004$ sowie χ (GDM_NeoV) = $0,020$ und σ (GDM_NeoV) = $\pm 0,008$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,328$ mit den Mittelwerten χ (K_NeoA) = $0,017$ und der Standardabweichung σ (K_NeoA) = $\pm 0,006$ sowie χ (GDM_NeoA) = $0,010$ und σ (GDM_NeoA) = $\pm 0,004$ berechnen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,359$ mit den Mittelwerten χ (K_Plaz) = $0,028$ und der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,008$ sowie χ (GDM_Plaz) = $0,039$ und σ (GDM_Plaz) = $\pm 0,009$.

3.4.4 Tracer-Konzentrationen in freien Fettsäuren

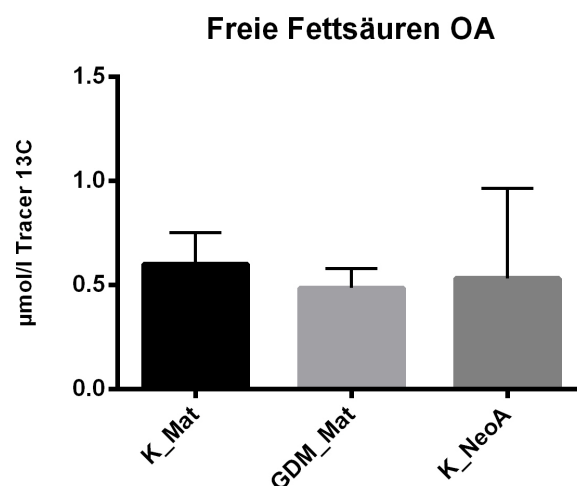


Abbildung 32: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in freien Fettsäuren. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Ölsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe

(GDM_Mat) mittels t-test in freien Fettsäuren ergab einen p-Wert von $p = 0,507$ mit den Mittelwerten $\chi(K_Mat) = 0,601$ und der Standardabweichung $\sigma(K_Mat) = \pm 0,151$ sowie $\chi(GDM_Mat) = 0,486$ und $\sigma(GDM_Mat) = \pm 0,093$. Bei der Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich ein p-Wert von $p = 0,300$ mit den Mittelwerten $\chi(K_NeoA) = 0,530$ und der Standardabweichung $\sigma(K_NeoA) = \pm 0,433$ sowie $\chi(GDM_NeoA) = 0,004$ und $\sigma(GDM_NeoA) = \pm 0,002$ berechnen.

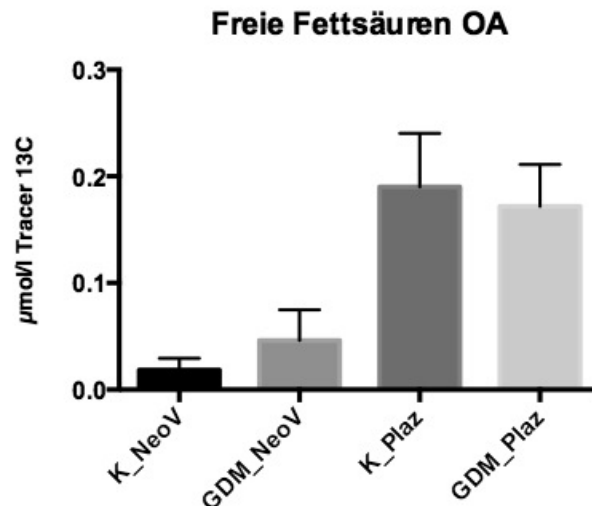


Abbildung 33: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in freien Fettsäuren. Auf der x-Achse sind die untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von $p = 0,464$ mit den Mittelwerten $\chi(K_NeoV) = 0,017$ und der Standardabweichung $\sigma(K_NeoV) = \pm 0,012$ sowie $\chi(GDM_NeoV) = 0,046$ und $\sigma(GDM_NeoV) = \pm 0,029$. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,790$ mit den Mittelwerten $\chi(K_Plaz) = 0,189$ und der Standardabweichung $\sigma(K_Plaz) = \pm 0,051$ sowie $\chi(GDM_Plaz) = 0,172$ und $\sigma(GDM_Plaz) = \pm 0,039$.

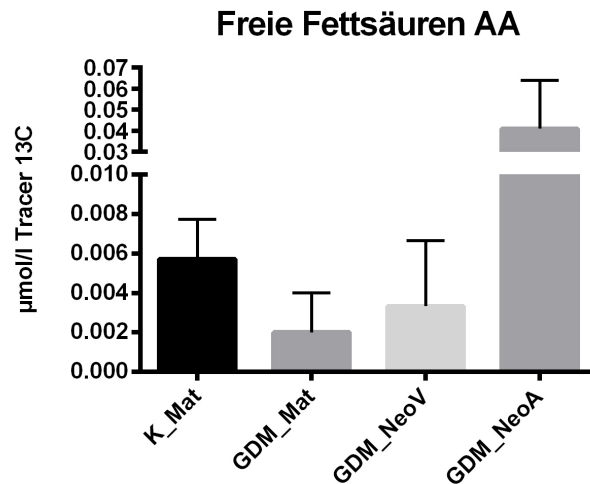


Abbildung 34: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in freien Fettsäuren. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. GDM_NeoV bezeichnet das venöse Nabelschnurblut von Neugeborenen der Mütter der Fallgruppe. GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen, deren Mütter in der Fallgruppe sind. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer dargestellt.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Arachidonsäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in freien Fettsäuren ergab einen p-Wert von $p = 0,0235$, mit den Mittelwerten $\bar{x}(\text{K_Mat}) = 0,006$ und der Standardabweichung $\sigma(\text{K_Mat}) = \pm 0,002$, sowie $\bar{x}(\text{GDM_Mat}) = 0,002$ und $\sigma(\text{GDM_Mat}) = \pm 0,002$. Im venösen Nabelschnurblut (NeoV), arteriellen Nabelschnurblut (NeoA) und im Plazentagewebe konnte aufgrund zu kleiner Messwerte keine Berechnung durchgeführt werden.

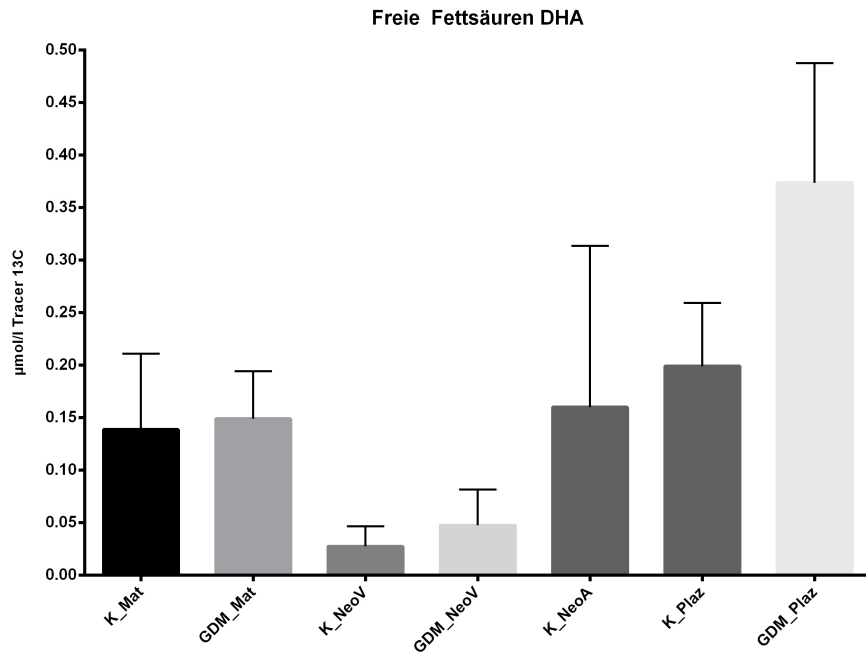


Abbildung 35: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in freien Fettsäuren. Auf der x-Achse sind die verschiedenen untersuchten Proben separat aufgezeichnet. K_Mat stellt das Blut der Kontrollgruppe von 10 gesunden Müttern dar, GDM_Mat bezieht sich auf das Blut der Fallgruppe von 10 Müttern mit Diabetes mellitus. K_NeoV ist Nabelschnurblut aus der V.umbilicalis von Neugeborenen der Mütter der Kontrollgruppe, analog dazu ist GDM_NeoV venöses Nabelschnurblut von Neugeborenen diabetogener Mütter. K_NeoA entspricht dem arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen aus der Kontrollgruppe und GDM_NeoA bezieht sich auf Nabelschnurblut aus der A. umbilicalis von Neugeborenen diabetogener Mütter. K_Plaz bezeichnet Plazentagewebe von Müttern der Kontrollgruppe und GDM_Plaz bezieht sich auf Plazentagewebe von Müttern der Fallgruppe. Es sind Mittelwerte und Standardfehler grafisch dargestellt. Auf der y-Achse ist die Konzentration des Tracers in $\mu\text{mol/l}$ Tracer ^{13}C abgebildet.

Der Vergleich der Tracer-Konzentrationen von ^{13}C -Docosahexaensäure zwischen maternalen Blutproben von Probandinnen der Kontrollgruppe (K_Mat) und der Fallgruppe (GDM_Mat) mittels t-test in freien Fettsäuren ergab einen p-Wert von $p = 0,901$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_Mat) = 0,139 und der Standardabweichung σ (K_Mat) = $\pm 0,072$ sowie \bar{x} (GDM_Mat) = 0,149 und σ (GDM_Mat) = $\pm 0,045$. Bei den Berechnungen für das venöse Nabelschnurblut (NeoV) ergab sich ein p-Wert von $p = 0,704$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_NeoV) = 0,028 und der Standardabweichung σ (K_NeoV) = $\pm 0,019$ sowie \bar{x} (GDM_NeoV) = 0,048 und σ (GDM_NeoV) = $\pm 0,034$. Die Berechnung für das arterielle Nabelschnurblut (NeoA) ließ sich aufgrund zu kleiner Messwerte nicht durchführen. Im Plazentagewebe (Plaz) beider Gruppen ergab sich ein $p = 0,221$ mit den Mittelwerten \bar{x} (K_Plaz) = 0,199 und der Standardabweichung σ (K_Plaz) = $\pm 0,060$ sowie \bar{x} (GDM_Plaz) = 0,374 und σ (GDM_Plaz) = $\pm 0,114$.

3.4.5 Totale ^{13}C -Fettsäure-Gehalte im Verhältnis venösen Nabelschnurblutes zu mütterlichem Blutplasma

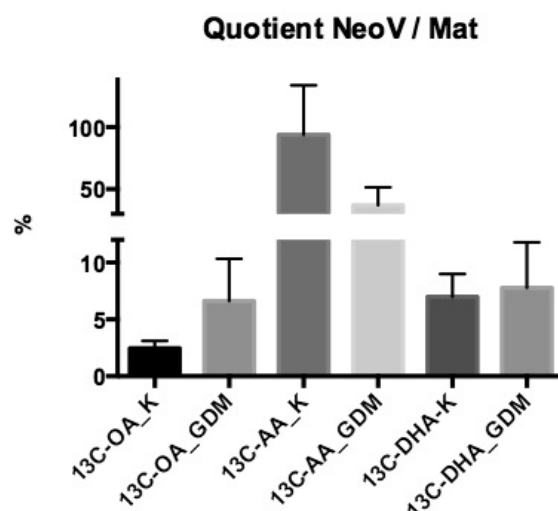


Abbildung 36: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen von venösem Nabelschnurblut und mütterlichem Blutplasma in GDM- und Kontrollgruppe. Mittelwerte und Standardfehler wurden zur grafischen Darstellung herangezogen. Die Quotienten sind prozentual dargestellt. Die mit Tracer markierten Fettsäuren Ölsäure (OA), Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) in der Kontrollgruppe (K) bzw. GDM-Gruppe (GDM) sind grafisch dargestellt. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der ANOVA-Test mit post-hoc Tukey-Test verwendet. Signifikante Unterschiede zwischen beiden getesteten Gruppen sind mit einem Sternchen markiert.

In der obigen grafischen Darstellung wurden Quotienten aus den Mittelwerten der absoluten ^{13}C -Fettsäurekonzentrationen von venösem Nabelschnurblut und mütterlichem Blutplasma gebildet. Die ^{13}C -Ölsäure-Konzentration war in der Kontrollgruppe in venösem Nabelschnurblut $2,45 \% \pm 0,66$ höher als in mütterlichem Blutplasma. In der GDM-Gruppe war sie $6,59 \% \pm 3,73$ höher. Die Gesamt- ^{13}C -Arachidonsäurekonzentration lag in der K-Gruppe in venösem Nabelschnurblut $93,71 \% \pm 39,94$ höher als in mütterlichem Blutplasma. Auch in der GDM-Gruppe war sie im venösen Nabelschnurblut $36,83 \% \pm 14,54$ höher als in mütterlichem Blut. Die Gesamtkonzentration an ^{13}C -Docosahexaensäure war ebenfalls in beiden Gruppen in venösem Nabelschnurblut höher als im Blutplasma der Mutter. Hier betrug der Unterschied in der Kontrollgruppe $6,97 \% \pm 2,02$ und in der GDM-Gruppe $7,76 \% \pm 4,01$. Beide Gruppen unterschieden sich in allen drei gemessenen ^{13}C -Fettsäuren nicht signifikant.

Vergleicht man jedoch die verschiedenen ^{13}C -Fettsäuren innerhalb einer Gruppe miteinander ergibt sich ein anderes Bild:

Quotient Kontrollgruppe NeoV / Mat

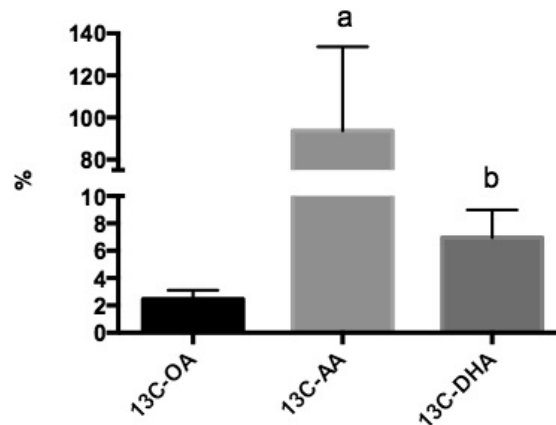


Abbildung 37: Quotienten der totalen ¹³C-Fettsäure-Konzentrationen von venösem Nabelschnurblut und mütterlichem Blutplasma in der Kontrollgruppe. Mittelwerte und Standardfehler wurden zur grafischen Darstellung herangezogen. Die Quotienten sind prozentual dargestellt. Die mit Tracer markierten Fettsäuren Ölsäure (OA), Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) sind grafisch dargestellt. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der ANOVA-Test mit post-hoc Tukey-Test verwendet. Signifikante Unterschiede zwischen beiden getesteten Gruppen sind mit Superskript-Buchstaben markiert. a kennzeichnet hierbei einen signifikanten Unterschied zwischen ¹³C-OA und ¹³C-AA. b stellt einen signifikanten Unterschied zwischen ¹³C-AA und ¹³C-DHA dar.

Die Abbildung 37 zeigt, dass in der Kontrollgruppe im venösen Nabelschnurblut signifikant höhere Fettsäurekonzentrationen an ¹³C-Arachidonsäure und ¹³C-DHA vorzufinden sind als ¹³C-OA. Die ¹³C-OA-Konzentration beträgt in venösem Nabelschnurblut 2,45 % ± 0,66 mehr als in Blutplasma der Schwangeren. Im venösen Nabelschnurblut sind 93,71 % ± 39,94 mehr ¹³C-AA und 6,97 % ± 2,02 mehr ¹³C-DHA messbar als in mütterlichem Blutplasma.

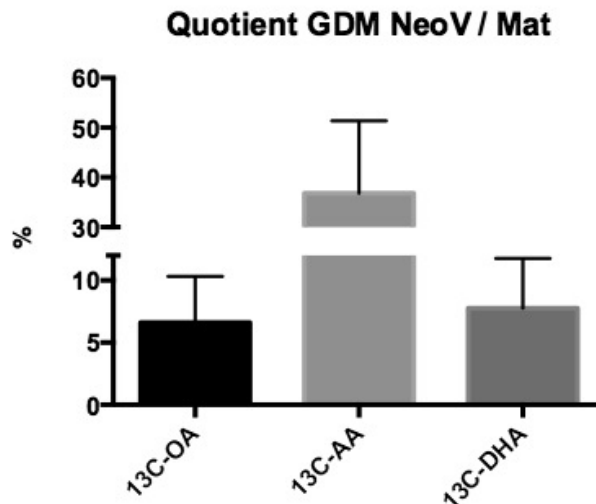


Abbildung 38: Quotienten der totalen ¹³C-Fettsäure-Konzentrationen von venösem Nabelschnurblut und mütterlichem Blutplasma in der GDM-Gruppe. Mittelwerte und Standardfehler wurden zur grafischen Darstellung herangezogen. Die Quotienten sind prozentual dargestellt. Die mit Tracer markierten Fettsäuren Ölsäure (OA), Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) sind grafisch dargestellt. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der ANOVA-Test mit post-hoc Tukey-Test verwendet. Signifikante Unterschiede zwischen beiden getesteten Gruppen sind mit Superskript-Buchstaben markiert. a kennzeichnet hierbei einen signifikanten Unterschied zwischen ¹³C-OA und ¹³C-AA. b stellt einen signifikanten Unterschied zwischen ¹³C-AA und ¹³C-DHA dar.

Bei Betrachtung dieser Verhältnisse in der GDM-Gruppe zeigt sich kein signifikanter Unterschied in allen drei gemessenen ¹³C-Fettsäuren. Tendenziell lässt sich jedoch auch hier sagen, dass ¹³C-AA verglichen mit ¹³C-OA und ¹³C-DHA in höheren Anteilen in venösem Nabelschnurblut vorhanden ist als in mütterlichem Blutplasma (¹³C-OA 6,59 % ± 3,73; ¹³C-AA 36,83 % ± 14,54; ¹³C-DHA 7,76 % ± 4,01).

3.4.6 Totale ^{13}C -Fettsäure-Gehalte im Verhältnis Plazentagewebe zu mütterlichem Blutplasma

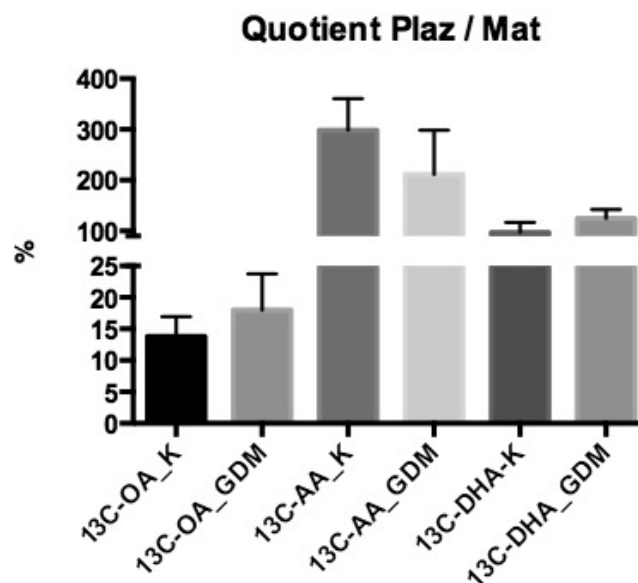


Abbildung 39: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen in Plazentagewebe und mütterlichem Blutplasma in GDM- und Kontrollgruppe. Mittelwerte und Standardfehler wurden zur grafischen Darstellung herangezogen. Die Quotienten sind prozentual dargestellt. Die mit Tracer markierten Fettsäuren Ölsäure (OA), Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) in der Kontrollgruppe (K) bzw. GDM-Gruppe (GDM) sind grafisch dargestellt. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der ANOVA-Test mit post-hoc Tukey-Test verwendet. Signifikante Unterschiede zwischen beiden getesteten Gruppen sind mit einem Sternchen markiert.

In Abbildung 39 sind die gemessenen absoluten ^{13}C -Fettsäurekonzentrationen als Quotienten von Konzentrationen in Plazentagewebe zu Konzentrationen in mütterlichem Blutplasma dargestellt. Die Ergebnisse für Kontroll- und GDM-Gruppe sind nebeneinander grafisch abgebildet. Hierbei hat sich ergeben, dass zwischen beiden gemessenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede bestehen. In beiden Gruppen war die ^{13}C -Arachidonsäurekonzentration im Plazentagewebe viel höher als in mütterlichem Plasma. Auch ^{13}C -DHA war in Plazentagewebe in beiden Gruppen in deutlich höherer Konzentration messbar als in Blutplasma der Schwangeren. ^{13}C -OA war ebenfalls in Plazentagewebe stärker konzentriert, jedoch dieses Ergebnis war verhältnismäßig am wenigsten stark ausgeprägt.

Quotient Kontrollgruppe Plaz / Mat

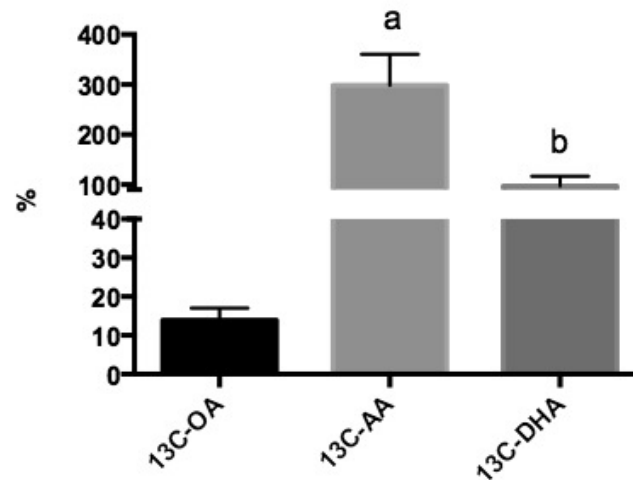


Abbildung 40: Quotienten der totalen ¹³C-Fettsäure-Konzentrationen von Plazentagewebe und mütterlichem Blutplasma in der Kontrollgruppe. Mittelwerte und Standardfehler wurden zur grafischen Darstellung herangezogen. Die Quotienten sind prozentual dargestellt. Die mit Tracer markierten Fettsäuren Ölsäure (OA), Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) sind grafisch dargestellt. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der ANOVA-Test mit post-hoc Tukey-Test verwendet. Signifikante Unterschiede zwischen beiden getesteten Gruppen sind mit Superskript-Buchstaben markiert. a kennzeichnet hierbei einen signifikanten Unterschied zwischen ¹³C-OA und ¹³C-AA. b stellt einen signifikanten Unterschied zwischen ¹³C-AA und ¹³C-DHA dar.

In der gesonderten Darstellung der drei gemessenen ¹³C-Fettsäuren in der Kontrollgruppe zeigen sich signifikante Unterschiede zwischen diesen (Abbildung 40). Die ¹³C-AA-Konzentration ist in Plazentagewebe 298,7 % ± 62,17 höher als in mütterlichem Blutplasma. Die ¹³C-DHA-Konzentration ist in Plazentagewebe 96,79 % ± 20,10 höher als in mütterlichem Blut. Dieser Unterschied ist signifikant (p= 0,0022**). Die Konzentration von ¹³C-OA ist in Plazentagewebe 13,81 % ± 3,16 höher als in mütterlichem Blutplasma. Der Unterschied zwischen ¹³C-OA und ¹³C-AA ist hochsignifikant mit einem berechneten p-Wert von <0,0001, wohingegen zwar ein Unterschied zwischen ¹³C-OA und ¹³C-DHA besteht, dieser allerdings nicht signifikant ist (p= 0,283).

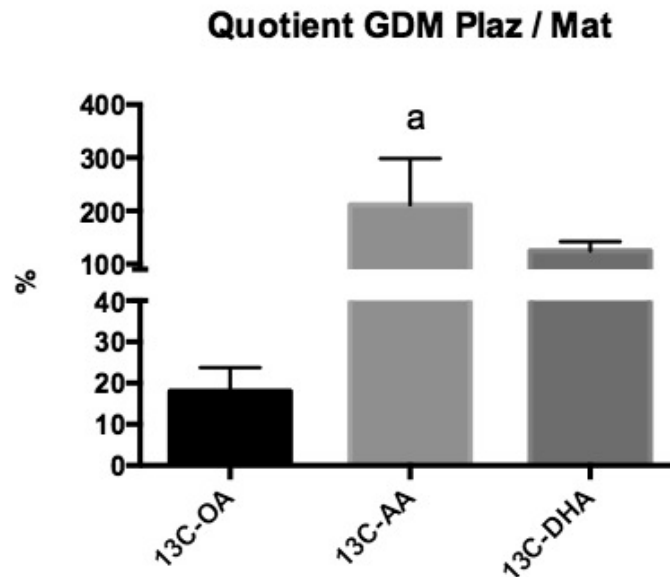


Abbildung 41: Quotienten der totalen ¹³C-Fettsäure-Konzentrationen von Plazentagewebe und mütterlichem Blutplasma in der GDM-Gruppe. Mittelwerte und Standardfehler wurden zur grafischen Darstellung herangezogen. Die Quotienten sind prozentual dargestellt. Die mit Tracer markierten Fettsäuren Ölsäure (OA), Arachidonsäure (AA) und Docosahexaensäure (DHA) sind grafisch dargestellt. Zur Berechnung der statistischen Signifikanz wurde der ANOVA-Test mit post-hoc Tukey-Test verwendet. Signifikante Unterschiede zwischen beiden getesteten Gruppen sind mit Superskript-Buchstaben markiert. a kennzeichnet hierbei einen signifikanten Unterschied zwischen ¹³C-OA und ¹³C-AA.

In der oben dargestellten Abbildung zeigen sich die verhältnismäßigen Anteile aller drei gemessenen ¹³C-Fettsäuren in der GDM-Gruppe. Hierbei ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen ¹³C-OA und ¹³C-AA in dieser Gruppe mit einem p-Wert von 0,032*. In der grafischen Darstellung wird ebenfalls deutlich, dass die ¹³C-AA-Konzentration im Plazentagewebe dieser Gruppe am höchsten ist. Die ¹³C-AA Konzentration ist in Plazentagewebe 211,4 % ± 86,84 höher als in mütterlichem Blutplasma.

3.5 Immunolokalisation von FATP-1 und FATP-4

Ziel der immunhistochemischen Darstellung von FATP-1 und FATP-4 ist einerseits der Nachweis dieser Genprodukte auf Proteinebene, andererseits eine qualitative und semiquantitative Lokalisationsdarstellung dieser Fettsäuretransportproteine im Synzytiotrophoblasten und im fetalen Kapillarendothel der Plazenta möglich zu machen und zwischen den beiden Gruppen dieser Studie zu vergleichen.

Die unten stehende Grafik soll die Lokalisation schematisch grafisch darstellen.

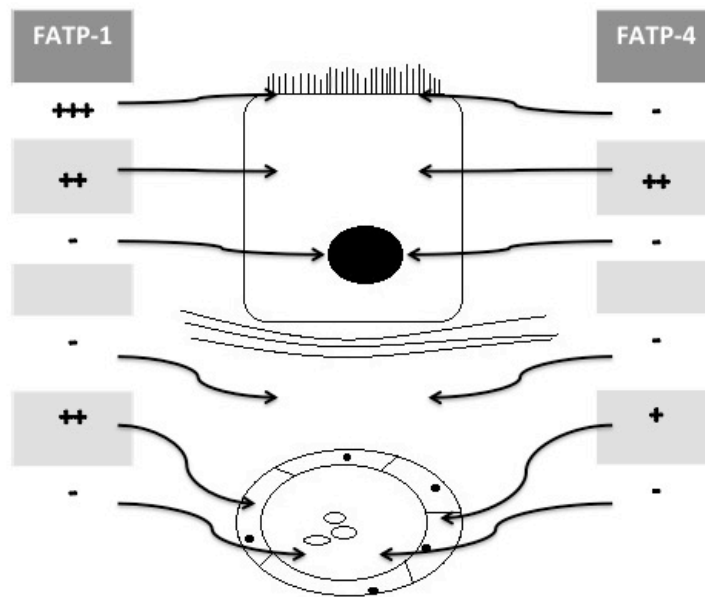


Abbildung 42: Schematische Darstellung eines Synzytiotrophoblasten (oben) und einer Kapillare (unten) in der Plazenta. Die Zeichen + und - zeigen an, wie stark FATP-1 und FATP-4 in den verschiedenen Zellkompartimenten vorhanden sind.

Die zwei Antikörper wiesen zum Teil ein deutlich differenziertes Färbeverhalten auf. Bei beiden Antikörpern konnte im Synzytiotrophoblasten ein zytoplasmatisches Färbeverhalten gezeigt werden, wobei FATP-1 zudem eine starke Anfärbung der apikalen Membran zeigte. Im Zellkern ist es nicht vorhanden. Im fetalen Kapillarendothel der Plazenta ist FATP-1 ebenfalls aufzufinden. Diese Lokalisierungen unterscheiden sich nicht zwischen Kontroll- und Gestationsdiabetesgruppe. Das Fettsäuretransportprotein FATP-4 ist im Zytoplasma des Synzytiotrophoblasten ebenfalls aufzufinden, allerdings ohne Akzentuierung der apikalen Membran. Im Zellkern befindet sich ebenfalls kein FATP-4. Im Kapillarendothel kommt FATP-4 nur sehr schwach vor. Auch die Lokalisation von FATP-4 ist zwischen Kontroll- und Diabetesgruppe nicht unterschiedlich.

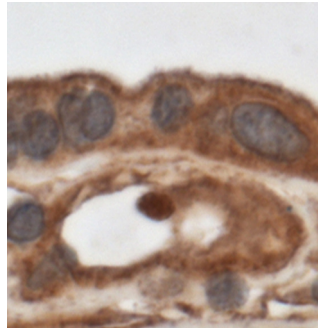


Abbildung 43: Repräsentative Abbildung der Immunhistochemie gegen FATP-1 im Zytoplasma des Synzytiotrophoblasten (oben) und im fetalen Kapillarendothel (unten).

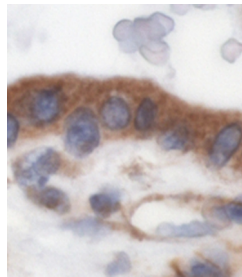


Abbildung 44: Repräsentative Abbildung der Immunhistochemie gegen FATP-4 im Zytoplasma des Synzytiotrophoblasten (oben) und im fetalen Kapillarendothel (unten).

Diese beiden Ausschnitte sind repräsentative Ausschnitte der oben beschriebenen immunhistochemischen Unterschiede.

4 Diskussion

4.1 Plazentarer Fettsäuretransfer

Der mütterliche Blutkreislauf ist während der Schwangerschaft von der kindlichen Zirkulation durch die Plazenta getrennt. Die reife Plazenta besteht aus drei Schichten, dem der Mutter zugewandten Synzytiotrophoblasten, einer dünnen Bindegewebsschicht und dem fetalen Endothel. Diese Barriere muss zum Nährstoffaustausch passiert werden. [131] Der Nährstoffaustausch geschieht über passiven und aktiven Transport. Für den aktiven Fettsäuretransfer sind eine Reihe von Fettsäuretransportproteinen bekannt. [69] In *in vitro* Studien ist das Verhalten der Fettsäuretransportproteine bezüglich ihrer Substrataffinität und ihres Bindungsverhaltens beobachtet worden. Die Gruppe um Campbell et al. zeigte, dass für FABPpm eine höhere Affinität und Bindungskapazität zu DHA und AA bestehe als zu LA und OA. [71] Daraus lässt sich schlussfolgern, dass FABPpm bevorzugt LC-PUFA transportiert. [71] In anderen Plazenta-Perfusionsstudien konnte gezeigt werden, dass die humane Plazenta selektiv bestimmte Fettsäuren vom mütterlichen zum fetalen Organismus transportiert. Dabei wurde festgestellt, dass die Transportaffinität von DHA zu ALA zu LA zu OA und zu AA hin nachlässt. [132] Es scheint eine bisher noch nicht verstandene Hierarchie im Transportverhalten zu geben. [132] Diese Erkenntnisse lassen sich jedoch nicht ohne weiteres auf den *in vivo* Transport übertragen, da Faktoren wie die Albuminbindung und Metabolisierung der FS in der Plazenta nicht unberücksichtigt gelassen werden dürfen. [76]

Larqué et al. befassten sich in ihren Arbeiten mit stabilen Isotopen und untersuchten den Fettsäuretransport bei gesunden Schwangeren über die Plazenta eingehend. In ihren Experimenten konnten sie feststellen, dass in Nabelschnurblut anteilig mehr LC-PUFA vorhanden sind als in mütterlichem Plasma. [76]

Außerdem konnte gezeigt werden, dass eine signifikante positive Korrelation zwischen dem DHA-Anteil in der Phospholipidfraktion von Plazentagewebe und der mRNA-Expression der Membranproteine FATP-1 und FATP-4 in der Plazenta der Probandinnen besteht. [72]

Bis dato existierten noch keine experimentellen Daten über die *in vivo* Situation bei Schwangeren mit Diabetes mellitus. Der Versuchsaufbau der dargestellten Studie hat sich zum Ziel gesetzt, Unterschiede im LC-PUFA-Transport zwischen gesunden Schwangeren und Schwangeren mit Diabetes mellitus deutlich zu machen. Die durchgeführten Experimente befassten sich mit der Fragestellung, in wie weit Unterschiede in der mRNA-

Expression von verschiedenen Fettsäuretransportproteinen festzustellen sind, welche für den präferentiellen LC-PUFA Transport entscheidend zu sein scheinen. Hiermit wurde primär eine Regulation auf Transkriptionsebene untersucht. Die genaue Rolle der Fettsäuretransportproteine scheint sehr komplex zu sein und ist noch nicht eindeutig belegt. Es gibt jedoch Evidenz dafür, dass sie eine maßgebliche Rolle am aktiven Fettsäuretransport in der Plazenta zu haben scheinen. [69, 72]

Diese Arbeit versuchte in einem neuen Ansatz die Regulation auf Transkriptionsebene näher zu beleuchten und mögliche Unterschiede in der Expression von mRNA für die Transkription von Fettsäuretransportproteinen zwischen gesunden Schwangeren und Schwangeren mit Diabetes mellitus festzustellen. Dies war die erste experimentelle Untersuchung dieser Art bei Schwangeren mit Diabetes mellitus. In der Untersuchung der mRNA von FATP-1, FATP-4, FATP-6, FABPpm, FAT/CD36 und aFABP ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Versuchsgruppen (FATP-1 $p=0,393$; FATP-4 $p=0,911$; FATP-6 $p=0,853$; FABPpm $p=0,684$; FAT/CD36 $p=0,739$; aFABP $p=0,529$). Die Gruppenunterschiede waren weit entfernt von signifikanten Unterschieden, so dass sich auch kein Trend erkennen ließ. Dies könnte an der relativ geringen Fallzahl der Studie liegen, weitere Studien hierzu mit höherer Fallzahl müssen darüber Auskunft geben, ob sich die Ergebnisse bestätigen. Die Ergebnisse zeigen jedoch eindrücklich, dass auf Transkriptionsebene keine Unterschiede zwischen Schwangeren mit Diabetes und gesunden Schwangeren existieren. Dies schließt allerdings nicht aus, dass posttranskriptionelle oder posttranslationale Regulationsmechanismen bestehen, die zu einer veränderten Aktivität von Fettsäuretransportproteinen führen und so den LC-PUFA-Transfer unmittelbar beeinflussen. Es wäre wünschenswert, weitere Versuche anzuschließen, die zum Beispiel mittels Western-Blot-Techniken die Beurteilung einzelner Proteinquantitäten ermöglichen und damit konkretere Hinweise auf die Proteinaktivität geben.

Zusätzlich zu der untersuchten transkriptionellen Ebene haben wir mittels der Immunhistochemie ebenfalls die Expression auf Proteinebene nachgewiesen. Zudem ermöglichte diese Untersuchung eine Aussage zur Lokalisation von FATP-1 und FATP-4 innerhalb der verschiedenen Zellen und Zellkompartimente. Hier zeigt sich, dass FATP-1 besonders stark an der apikalen Membran des Synzytiotrophoblasten vorkommt, jedoch im ganzen Zellzytoplasma zu finden ist, wohingegen FATP-4 keine Präferenz zur apikalen Seite zeigt, sondern im gesamten Zellzytoplasma mittelstark exprimiert ist. Ein Unterschied in der Lokalisation dieser beiden FATPs ließ sich für die gesunde

Kontrollgruppe und die Gruppe der Schwangeren mit Diabetes mellitus nicht ausmachen. Im fetalen Endothel sind beide FAT-Proteine ebenfalls vorzufinden, hier FATP-1 in stärkerer Intensität als FATP-4. Ein unterschiedliches Färbeverhalten in den Plazenten der gesunden Schwangeren und der Schwangeren mit Diabetes mellitus war ebenfalls nicht auszumachen. Die Ergebnisse von mRNA-Expression und immunhistochemischer Darstellung der FATP-1 und FATP-4 unterstützen beide die Hypothese, dass Fettsäuretransportproteine 1 und 4 in Plazenten gesunder Schwangerer und Schwangerer mit Diabetes mellitus nicht verschiedenartig vorkommen. Die Krankheitsprozesse, die im Krankheitsprozess des Diabetes mellitus aktiviert werden, verändern die Regulation dieser Fettsäuretransportproteine nicht für uns sichtbar. Es wird allerdings nötig sein, durch Studien an größeren Patientenpopulationen die Signifikanz dieser Ergebnisse zu bestätigen.

Neben den Fettsäuretransportproteinen wurde außerdem die mRNA-Expression der Fettsäure-Desaturasen FADS-1 und FADS-2 untersucht, welche die Umwandlung von essenziellen Fettsäuren in LC-PUFA katalysieren. [46] In Versuchen mit natürlich vorkommendem Typ 1 und Typ 2 Diabetes mellitus sowie Studien mit experimentellem Diabetes war die Aktivität der Desaturase-Enzyme beeinträchtigt und der Gehalt der Desaturasen in der Plazentamembran erniedrigt. [7, 133-135]

Die mRNA-Expression der beiden Desaturase-Enzyme unterschied sich jedoch nicht signifikant bei gesunden Schwangeren und Schwangeren mit Diabetes (FADS-1 $p=0,579$; FADS-2 $p=0,739$). Es war auch keine Tendenz in eine Richtung erkennbar, sodass aus diesen Versuchen geschlossen werden kann, dass auf transkriptioneller Ebene keine Regulation stattfindet. Auch hier ist wiederum nicht auszuschließen, dass die Effekte, die sich in den Vorstudien darstellen ließen, trotzdem existieren, jedoch lediglich nicht auf Transkriptionsebene darzustellen sind. Es ist nicht auszuschließen, dass eine unterschiedliche Aktivität der Desaturase-Enzyme bei Gesunden und Diabetikerinnen erst in späteren Regulationsstufen sichtbar wird und mit diesem experimentellen Ansatz nicht aufzudecken ist.

In einem nächsten Schritt wurde die mRNA-Expression der Lipoproteinlipase hLPL und der endothelialen Lipase hEL untersucht, da diese Lipasen als maßgebliche Regulationsfaktoren gelten, ohne die die weitere Verwendung der Fettsäuren im plazentaren Kreislauf nicht möglich ist. [113]. Sie sind die entscheidenden Enzyme, die für die Fettsäure-Freisetzung aus den Lipoproteinen der mütterlichen Zirkulation verantwortlich zu sein scheinen. Lediglich ungebundene nicht veresterte Fettsäuren

können unabhängig von Lipasen aus dem mütterlichen Kreislauf entnommen werden. [100, 136] Die genaue Lokalisation der hLPL und hEL in der Plazenta ist noch nicht abschließend geklärt, aber Studien an humaner und muriner Plazenta haben gezeigt, dass hLPL- und hEL-mRNA ausgiebig vorhanden ist. [137, 138] Zudem konnten Previato et al. nachweisen, dass hLPL in Adipozyten auf Transkriptionsebene moduliert wird [112, 139]. In dieser Studie wurde die mRNA-Expression von hEL und hLPL in Plazenten gesunder Schwangerer und Schwangeren mit Diabetes mellitus untersucht und miteinander verglichen. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen (hEL $p=0,912$; hLPL $p=0,340$). Das Ergebnis dieser Messungen kann so gedeutet werden, dass bei Schwangeren mit Diabetes mellitus keine differierende Regulation von hEL und hLPL auf Transkriptionsebene stattfindet. In einer Studie von Gauster et al. zeigte sich bei Schwangerschaften mit intrauteriner Wachstumsretardierung (IUGR) in der Plazenta eine Dysregulation von hEL und hLPL mit um 30 % verminderter hEL-Expression und 2,4fach erhöhter hLPL-Expression. [68] Eine andere Studie bestätigte diese Ergebnisse zum Teil mit einer Hochregulation von hLPL in Plazenten bei IUGR. [112] Da IUGR mit geringerer fetaler Körperfettmasse assoziiert ist, verleiten diese Ergebnisse zur Annahme, dass die Dysregulation von Schlüssellipasen in der Plazenta zu Anomalien bei der Hydrolyse von Fettsäuren aus den mütterlichen Lipoproteinen führen kann, was ursächlich für die veränderte Körperfettmasse bei Neugeborenen mit IUGR sein könnte. [140] Würde man diese Ergebnisse auf Gestationsdiabetes übertragen und von einem ähnlichen Mechanismus ausgehen, könnte man die Hypothese aufstellen, dass das üblicherweise höhere Geburtsgewicht der häufig makrosomen Neugeborenen von Müttern mit Gestationsdiabetes durch eine Überexpression von Lipasen getriggert sein könnte. Diese Vermutung ließ sich jedoch in unseren Versuchen auf mRNA-Expressionsebene nicht bestätigen. Wir gehen davon aus, dass die mRNA-Expression von hEL und hLPL nicht der limitierende Faktor dieses Regulationsprozesses ist. Hier ist wiederum ebenfalls nicht auszuschließen, dass diese Effekte auf einer späteren Regulationsebene messbar werden.

4.2 Fettsäuren in mütterlicher Zirkulation, Nabelschnurblut und Plazenta

Die Versuchsmethodik zur Tracer-Messung ermöglichte es, Tracer-Anreicherungen in den untersuchten Lipidfraktionen PL, TG, CE und NEFA in Blutplasma und Plazentagewebe 12 Stunden nach Verabreichung der markierten Fettsäuren zum Zeitpunkt der Sectio zu analysieren. Weitere Entnahmen mütterlichen Blutes während der 12-Stunden-Periode, bis die werdenden Mütter zum geplanten Kaiserschnitt abgerufen wurden, waren aufgrund von zu starken Unannehmlichkeiten für die Schwangeren nicht machbar, da dies den Schlaf der Schwangeren erheblich gestört hätte.

In dieser Studie ergab sich für die Fettsäuren in der mütterlichen Zirkulation während der Gestation folgende Konstellation: Die Konzentration der ^{13}C -Ölsäure, die als Vertreter der einfach ungesättigten Fettsäuren diente, war in der Phospholipidfraktion zwischen Fall- und Kontrollgruppe nicht signifikant unterschiedlich. Bei der Arachidonsäure hingegen, die als vierfach ungesättigte Fettsäure zu den LC-PUFA gezählt wird, ergab sich eine signifikant höhere Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in der Kontrollgruppe in mütterlichem Plasma ($p=0,0047^{**}$), venösem Nabelschnurblut ($p=0,0498^{*}$), arteriellem Nabelschnurblut ($p=0,042^{*}$) und Plazentagewebe ($p=0,003^{**}$) (siehe Abbildung 17). Auf die Frage, warum gerade die Arachidonsäure im mütterlichen Plasma, arteriellem und venösem Nabelschnurblut und Plazentagewebe in der Gruppe der Diabetikerinnen signifikant erniedrigt ist, gibt es letztendlich keine zufriedenstellende Antwort, jedoch eine Reihe von Vermutungen. Arachidonsäure ist jene Fettsäure, welche als Vorläufer für Eicosanoide, Leukotriene und Thromboxane gilt, die als Modulatoren von immunologischen und sowohl proinflammatorischen als auch antiinflammatorischen Prozessen sowie Botenstoffen im zentralen Nervensystem aktiv sind. [141] Da Arachidonsäure sowohl pro- als auch antiinflammatorisch wirken kann, kann ein proportionaler kausaler Zusammenhang zwischen Entzündungsaktivität und Arachidonsäurekonzentration nicht hergestellt werden. [142] In Studien, in denen der Effekt von n-3 und n-6 Fettsäuren auf die pro- und antiinflammatorische Zytokinproduktion gemessen wurde, konnte gezeigt werden, dass zum Beispiel ältere Menschen, die oft geringgradig erhöhte Entzündungszeichen im Blut zeigen, signifikant niedrigere n-6 Fettsäure-Anteile im Blut hatten. [142] Diese erhöhten Entzündungswerte ließen sich nicht durch Morbidität und kardiovaskuläre Risikofaktoren erklären, sodass ein wesentlicher Einfluss der n-6 FS auf die Inflammation vermutet wurde. [143] Als allgemein anerkannte Tatsache gilt, dass der Gestationsdiabetes bei Schwangeren

hyperglykämische Zustände und chronische Entzündungsvorgänge unterhält, welche sich unter anderem durch Makrosomie des Neugeborenen und Geburtskomplikationen manifestieren können. [26] Die in dieser Arbeit festgestellten erniedrigten AA-Level im Blut von Gestationsdiabetikerinnen könnten Zeichen dieser proinflammatorischen Aktivität sein.

Die Tracer-Konzentrationen der LC-PUFA Docosahexaensäure war in beiden Studiengruppen nicht signifikant unterschiedlich. Eine Interpretationsmöglichkeit für dieses Ergebnis ist, dass bei Schwangeren mit Diabetes mellitus eine geringere Aufnahme von AA in die Phospholipidfraktion mütterlichen Blutes, Nabelschnurblutes und Plazentagewebe stattfindet. Eine andere Möglichkeit wäre, dass Arachidonsäure aus den Blutplasma-Phospholipiden schneller heraus in die Gewebe umverteilt wird. Damit wäre allerdings nicht zu erklären, weshalb die Arachidonsäure selbst in Plazentagewebe der GDM-Gruppe signifikant niedriger an PL gebunden ist, da laut dieser Hypothese dann mehr AA in Plazentagewebe der GDM-Gruppe vorhanden sein müsste.

In der Lipidfraktion der Triglyzeride gab es keine signifikanten Unterschiede in beiden Studiengruppen in mütterlichem Plasma, Nabelschnurblut und Plazentagewebe für alle drei ^{13}C -markierten Fettsäuren. Bei Betrachtung der Cholesterinester ergab sich ein signifikant höhere Konzentration an ^{13}C -Ölsäure im arteriellen Nabelschnurblut der Kontrollgruppe ($p = 0,0048^{**}$). Bei mütterlichem Blutplasma, venösem Nabelschnurblut und Plazentagewebe war kein Unterschied in der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure erkennbar. Die Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure war jedoch im Plazentagewebe der Kontrollgruppe signifikant erhöht gegenüber der Diabetesgruppe ($p = 0,0078^{**}$). In den untersuchten Blutplasmaproben waren in beiden Gruppen ähnliche Konzentration an ^{13}C -AA zu finden. Beim Vergleich der beiden Studiengruppen auf die Konzentration von ^{13}C -DHA ergab sich kein signifikanter Unterschied in allen untersuchten Proben.

Außerdem untersuchten wir die ^{13}C -Konzentration von Ölsäure, Arachidonsäure und DHA in den nicht veresterten freien Fettsäuren (NEFA) in Blut und Plazentagewebe. Dabei ergab sich kein signifikanter Unterschied für ^{13}C -Ölsäure, ^{13}C -Arachidonsäure und ^{13}C -Docosahexaensäure zwischen Fall- und Kontrollgruppe.

Diese Ergebnisse lassen Spielraum für verschiedene Interpretationen. Letztendlich lässt sich jedoch nicht mit Gewissheit sagen, warum ^{13}C -AA in der Kontrollgruppe in signifikant höherer Konzentration aufzufinden ist. Im Metabolismus von Probandinnen mit Diabetes mellitus sind größere Signalwege im Sinne eines inflammatorischen Geschehens verschoben. Diese inflammatorischen Prozesse spielen eine wichtige Rolle bei der β -

Zellen-Destruktion im Pankreas und der fortschreitenden Insulinresistenz der Patientinnen. [56] Es ist zu vermuten, dass im Metabolismus von Schwangeren mit GDM unmittelbar mehr Arachidonsäure verstoffwechselt und beispielsweise in bioaktive Eikosanoide umgewandelt wird, welche für die inflammatorischen Prozesse herangezogen werden. Dies könnte erklären, warum in den Blut- und Plazentagewebeproben signifikant weniger ^{13}C -AA in der GDM-Gruppe zu messen war.

Eine Einschränkung dieser Studie war, dass Nabelschnurblut und Plazentagewebe nur zum Zeitpunkt der Geburt entnommen werden konnten. Somit standen keine kinetischen Informationen über die Fettsäure-Verteilung während der 12-Stunden-Inkorporation und auf Seiten des Neugeborenen zur Verfügung. Wir akzeptierten diese Schwächen und gingen von einem gleichförmigen Verhalten der untersuchten FS aus. Dabei stützten wir uns auf die Annahme, dass die absoluten Tracer-Konzentrationen proportional zu der Fläche sind, die wir anhand der vorhandenen Daten berechnen konnten. Aufgrund dieser Annahmen konnten wir keine absoluten Transferraten berechnen, sondern nur Vergleiche zwischen den untersuchten FS anstellen. Hinsichtlich des Transfers der Tracer-FS auf der neonatalen Seite konnten wir ebenfalls nur auf die Daten der Nabelschnurblut-Ergebnisse zu einem Zeitpunkt zugreifen. Auch hier war keinerlei zusätzliche kinetische Information verfügbar. Wir besaßen zudem keine quantitativen Informationen über Einfuhr und Ausfuhr der Fettsäuren im fetalen Kreislauf und konnten aus diesem Grund nicht abschließend klären, ob höhere Tracer-Konzentrationen aufgrund von vermehrtem Transport über die Plazenta zustande kamen oder ob eine verminderte Abgabe der FS im fetalen Plasma hierfür verantwortlich ist. So gingen wir wie Gil-Sánchez et al. von der Annahme aus, dass die Verteilung von FS im fetalen Plasma und die potenzielle Zufuhr aus fetalen Geweben gleichmäßig für alle untersuchten Fettsäuren war. [144]

4.3 Fettsäureverteilungen in den verschiedenen Kompartimenten

Klingler et al. zeigten in ihren Untersuchungen zu den individuellen Fettsäure-Anteilen im Plazentagewebe, dass über 85 % der Fettsäuren in der Plazenta in Phospholipiden gespeichert sind, gefolgt von NEFAs, Triglyzeriden und Cholesterinestern. [145] Dieses Ergebnis bestätigte sich in unseren Experimenten, wo sich 85,30 % (K-Gruppe) und 87,93 % (GDM-Gruppe) der FS in PL befanden (Tabelle 33), ebenfalls gefolgt von NEFAs, Triglyzeriden und Cholesterinestern in absteigender Rangfolge. Die Ergebnisse der GDM-Gruppe waren nicht signifikant unterschiedlich zur Kontrollgruppe. Schlussfolgern lässt

sich hieraus, dass die verschiedenen Fettsäurefraktionen in den Plazenten von Schwangere mit Diabetes mellitus und Gesunden anteilig sehr ähnlich verteilt sind. Im mütterlichen Blutplasma und im venösen Nabelschnurblut fanden wir ebenfalls keine Unterschiede in der Fettsäureverteilung in den verschiedenen Kompartimenten zwischen K-Gruppe und GDM-Gruppe (Tabelle 31, Tabelle 32). Lediglich im arteriellen Nabelschnurblut ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen, die so noch nicht in der Literatur beschrieben sind. Im arteriellen Nabelschnurblut hatten die Schwangeren mit Diabetes mellitus signifikant geringere Fettsäurekonzentrationen in allen Kompartimenten, also in PL, TG, CE und NEFAs als die Schwangeren der gesunden Kontrollgruppe (Tabelle 32). Eine Erklärung für dieses Phänomen könnte sein, dass die potenziell eher makrosomen Neugeborenen von Müttern mit GDM in ihrem Metabolismus höhere Mengen an Fettsäuren aus den Nabelschnurvenen nutzen, sodass in den vom Kind zur Plazenta zurückführenden Nabelschnurarterien nur noch geringere Fettsäurekonzentrationen messbar sind. Innerhalb der jeweiligen Gruppe untersuchten wir ebenfalls, ob signifikante Unterschiede zwischen Nabelschnurvenen- und Nabelschnurarterienblut bestehen. In der Referenzgruppe zeigte sich in beiden Nabelschnurgefäßen kein signifikanter Unterschied (Tabelle 13). In der GDM-Gruppe war der Anteil der gesamten PUFA in der Phospholipidfraktion der Nabelschnurvene signifikant höher als in der Nabelschnurarterie ($p = 0,02^*$; Tabelle 14). Lewis et al. konnten in ihrer Studie mit 10 gesunden Schwangeren ebenfalls signifikant höhere PUFA-Anteile in der Nabelschnurvene darstellen, allerdings waren diese in der NEFA- und in der Cholesterinesterfraktion beobachtet worden. [146] Interessant ist, dass die Ergebnisse von Lewis et al. sich in unserer Gruppe der gesunden Schwangeren nicht direkt widerspiegeln, sondern lediglich in der GDM-Gruppe höhere PUFA-Anteile in der Nabelschnurvene messbar sind, diese jedoch auch in einer anderen Lipidfraktion als von Lewis beschrieben. Da diese Studie von Lewis et al. erstmalig solche Erkenntnisse aufgezeigt hat, bleibt abzuwarten, wie diese zu interpretieren sind und in welcher Art und Weise sie mit denen aus unserer Studie in Verbindung zu setzen sind. [146] Eine mögliche Erklärung für die höheren PUFA-Anteile im Nabelschnurvenenblut unserer GDM-Gruppe könnte sein, dass Neugeborene diabeteskranker Mütter mehr PUFAs benötigen und diese sofort aus dem venösen Nabelschnurblut in ihren Metabolismus nutzen, sodass signifikant niedrigere Anteile im zurückfließenden Nabelschnurarterienblut vorzufinden sind.

Larqu  et al. beschrieben in ihren ¹³C-Tracer-Versuchen von 2003, in denen sie schwangeren gesunden Frauen 4 Stunden vor einem elektiven Kaiserschnitt ¹³C-markierte Fettsäuren verabreichten, eine vermehrte Aufnahme von DHA in die Plazenta verglichen mit der Aufnahme anderer Fettsäuren. [76] In dieser genannten Studie konnte jedoch keine Tracer-Inkorporation in mütterliches Blutplasma, Plazenta-Phospholipide und Cholesterinester festgestellt werden. In einer weiteren Studie von 2010 wurde eine Studiendauer von 12 Stunden eingehalten, was zur Folge hatte, dass diesmal eine Traceraufnahme in alle Lipidfraktionen festgestellt werden konnte. [144] Wir konnten diese Ergebnisse mit unseren Versuchen bestätigen. Auch in unserer Studie zeigte sich, dass nach der von uns gewählten Inkubationszeit von 12 Stunden eine Traceraufnahme in alle Lipidfraktionen stattgefunden hatte. Eine längere Studiendauer als 4 Stunden scheint nötig zu sein, um eine Traceraufnahme in alle Lipidkompartimente zu gewährleisten. Die gewählte Zeit von Gil-Sanchez et al. von 12 Stunden schien angemessen zu sein und wurde von uns aufgrund dieser Vorerfahrungen ebenfalls so gewählt.  ber die Zusammensetzung der verschiedenen Lipidkompartimente mit den verschiedenen gemessenen FS war von Gil-Sanchez et al. und anderen schon bekannt, dass die gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren PA und OA hauptsächlich in der Triglyzeridfraktion vorkommen und die PUFAs LA und DHA bevorzugt in der Phospholipidfraktion vorzufinden sind. [144] Diese Ergebnisse verhielten sich in unserer Studie etwas unterschiedlicher. Die gesättigte Palmitinsäure war in mütterlichem und Nabelschnurblut anteilig am höchsten in freien, nicht veresterten Fettsäuren zu messen. Dies Ergebnis traf auf Fall- und Kontrollgruppe gleichermaßen zu. In Plazentagewebe ließ sich jedoch ein Unterschied zwischen Kontroll- und GDM-Gruppe ausmachen. In der Kontrollgruppe war der höchste Anteil an PA in Triglyzeriden gebunden, gefolgt vom zweithöchsten Anteil in Phospholipiden. In der GDM-Gruppe waren diese Ergebnisse genau gegenteilig. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant (Tabelle 17). Die einfach ungesättigte Ölsäure war in Fall- und Kontrollgruppe in den gleichen Lipidfraktionen messbar. In arteriellem und venösem Nabelschnurblut sowie in Plazentagewebe war der größte Anteil der Ölsäure in der Cholesterinesterfraktion gebunden. Nur in mütterlichem Blutplasma befand sich mehr OA in der Triglyzeridfraktion (Tabelle 15). Die Linolsäure war in allen untersuchten Proben in beiden Gruppen am stärksten in der Cholesterinesterfraktion zu finden. Die LC-PUFA Arachidonsäure und DHA zeigten ein ähnliches Verhalten wie in der Studie von Gil-Sanchez. Auch bei uns war der größte Anteil der LC-PUFA in der Phospholipidfraktion messbar (Tabelle 18). Abschließend lässt sich

sagen, dass bezüglich der Fettsäureverteilung in den verschiedenen Lipidkompartimenten des mütterlichen Blutplasmas keine signifikanten Unterschiede zwischen gesunden Schwangeren und Schwangeren mit GDM vorlagen.

In Hinblick auf die Stärken und Schwächen dieser Arbeit sind einige Verbesserungen denkbar. Zum Einen sorgt die relativ kleine Fallzahl von $n = 10$ in der Kontrollgruppe und $n = 11$ in der GDM-Gruppe dafür, dass die Power dieser Studie relativ niedrig ist. Eine größer angelegte Studie mit höherer Fallzahl wäre sicherlich aussagekräftiger als unsere. Die Schwierigkeit der Fallzahlerhöhung liegt jedoch darin, dass ein interdisziplinäres Netzwerk aus Gynäkologen und Pädiatern geschaffen werden muss, in welchem es leichter gelingt, freiwillige Probandinnen zu rekrutieren, die exakten Zeitpunkte für die Studie einzuhalten und einen reibungslosen Ablauf zu gewähren. Außerdem führen die extrem hohen Kosten der ^{13}C -markierten Fettsäuren dazu, dass enormer finanzieller Aufwand notwendig ist, wenn mehr Probandinnen in die Studie einbezogen werden sollen. Eine weitere Schwäche der Arbeit ist, dass in die Gruppe der Diabetes-Patienten Patientinnen mit Typ 1-Diabetes, Typ 2-Diabetes und Gestationsdiabetes eingeschlossen wurden. Vorteilhafter und aussagekräftiger wäre gewesen, eine reine Gestationsdiabetes-Gruppe zu schaffen, da die metabolischen Grundlagen in den verschiedenen Diabetes-Typen dahingehend voneinander abweichen, dass der Gestationsdiabetes eine erstmalig in der Schwangerschaft aufgetretene Insulininsuffizienz darstellt, wohingegen Typ 1- und Typ 2-Diabetes schon im Vorfeld der Schwangerschaft für längere Zeit vorhanden gewesen sein können und somit potenziell stärkere Konsequenzen auf den Transfer von Mutter zu Kind haben können.

Stärken der Arbeit sind eine gute Reproduzierbarkeit und Eindeutigkeit der molekulargenetischen Ergebnisse, die keinen Zweifel daran erlauben, dass auf mRNA-Ebene keine Regulation in der Expression von Fettsäuretransportproteinen stattfindet. Auch die Ergebnisse der ^{13}C -markierten Fettsäureverteilung in beiden Gruppen bestätigen sich in Studien, die in der Literatur beschrieben wurden.

Die vorliegende Arbeit liefert ein Beispiel für feine Unterschiede in der Fettsäureverteilung von gesunden Schwangeren und Schwangeren mit Diabetes mellitus, wobei in zukünftigen Studien nach den Ursachen und Zusammenhängen geforscht werden muss, die eine Erklärung für diese Unterschiede liefern können.

Die geringe Fallzahl in dieser Studie kann die Relevanz dieser Ergebnisse nicht endgültig klären. Auf dem Weg zu gezielten Ernährungsempfehlungen für Schwangere mit

Diabetes mellitus müssen unter anderem noch viele Fragen hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der gemessenen Daten an größeren Kohorten ermittelt werden.

5 Zusammenfassung

5.1 Grundlagen und Fragestellung

Der Diabetes mellitus ist mit einer Anzahl von über 171 Millionen erkrankten Menschen weltweit eine der größten metabolischen Volkserkrankungen. Die immer höhere werdende Zahl von Schwangeren mit Gestationsdiabetes lässt die Frage aufkommen, welche Konsequenzen für Schwangerschaft und Neugeborenen bestehen.

Ziel dieser Arbeit war es, anhand von einem erkrankten Probandenkollektiv sowie einer gesunden Referenzgruppe den Einfluss der Glukosestoffwechselstörung auf den Fettsäuremetabolismus von werdender Mutter über die Plazenta zum Ungeborenen bzw. Neugeborenen näher zu charakterisieren. Konkret sollte die Frage beantwortet werden, ob Unterschiede in der plazentaren mRNA-Expression von Fettsäuretransportproteinen bei Schwangeren mit Diabetes mellitus bestehen.

5.2 Methoden

In die Studie konnten 11 schwangere Probandinnen mit Diabetes mellitus eingeschlossen werden. Weiterhin konnten als Referenzgruppen 10 gesunde Schwangere gewonnen werden. Alle Probandinnen waren Patientinnen der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe Innenstadt (Klinikum der Ludwig-Maximilians-Universität München; Direktor Prof. Dr. med. Klaus Frieze). Die Probandinnen nahmen 12 Stunden vor einem geplanten Kaiserschnitt eine definierte Menge ^{13}C -markierte Docosahexaensäure, Arachidonsäure und Ölsäure zu sich. Zum Zeitpunkt der Sectio wurde venöses Blut der werdenden Mutter, Nabelschnurvenen und -arterienblut sowie Plazentagewebe gewonnen. Die gewonnen Proben wurden bis zur weiteren Bearbeitung tiefgefroren konserviert. Die durchgeführten Versuche wurde alle mit den Methoden der Real-Time PCR, Immunhistochemie, Gaschromatographie und Massenspektrometrie gemessen. Die Real-Time PCRs wurden mit Primern für die Fettsäuretransportproteine der FATP-Familie FATP-1, FATP-4 und FATP-6, des Fettsäurebindungsproteins FABPpm, der Fettsäuretranslokase FAT/CD36 und des Adipozyten-Fettsäurebindungsproteins aFABP sowie der Fettsäuredesaturasen FADS-1 und FADS-2 und der Fettsäurelipasen hEL und hLPL durchgeführt. Immunhistochemisch wurde Plazentagewebe mit Antikörpern gegen FATP-1 und FATP-4 gefärbt. Mittels Gaschromatographie wurden die Fettsäureverteilungen in den verschiedenen Fettsäurekompartimenten Phospholipide, Triglyzeride, Cholesterinester und freie Fettsäuren im Blutplasma und Plazentagewebe

bestimmt. Zusätzlich wurden Fettsäureanteile in der Phosphatidylcholin- und Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten gemessen. Außerdem konnten mit Hilfe der Massenspektrometrie die Anteile der ^{13}C -markierten Fettsäuren detektiert werden.

5.3 Ergebnisse

Die mittels Real-Time PCR gemessene mRNA-Expression von Fettsäuretransportproteinen FATP-1, FATP-4 und FATP-6, FABPpm, FAT/CD36, aFABP, von den Fettsäuresaturasen FADS-1 und FADS-2 und von den Fettsäurelipasen hEL und hLPL zeigten in beiden untersuchten Probandenkollektiven keine signifikanten Unterschiede. Auch der immunhistochemische Lokisationsnachweis von FATP-1 und FATP-4 im Synzytiotrophoblasten und Kapillarendothel war für beide Gruppen gleich. Bezüglich der Tracer-Fettsäureverteilung in beiden untersuchten Gruppen zeigte sich eine signifikant niedrigere ^{13}C -AA Anreicherung in der GDM-Gruppe. In Hinblick auf die Fettsäureverteilung von nicht-tracermarkierten Fettsäuren zeigten sich in der GDM-Gruppe signifikant höhere PUFA-Anteile in der Phospholipidfraktion des Nabelschnurvenenblutplasmas verglichen mit Nabelschnurarterienblutplasma.

5.4 Schlussfolgerung

Die für diese Arbeit erhobenen Daten zeigen, dass auf mRNA-Ebene keine Regulationsprozesse zu bestehen scheinen, die zu einer unterschiedlichen Verteilung von Fettsäuren von der Schwangeren auf den Neonatus führen. Auch die Darstellung mittels Immunhistochemie von FATP-1 und FATP-4 zeigt, dass diese Fettsäuretransportproteine in beiden untersuchten Gruppen gleich lokalisiert sind. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass Regulationsprozesse zu einem späteren Zeitpunkt aktiv werden, der jedoch in dieser Arbeit nicht untersucht wurde. Bezüglich der ^{13}C -Fettsäureanreicherung ist zu vermuten, dass die niedrigeren ^{13}C -AA-Anteile in der GDM-Gruppe dadurch zustande gekommen sein könnten, dass die Diabetikerinnen und ihre Neugeborenen aufgrund einer höheren inflammatorischen Grundaktivität im Metabolismus mehr ^{13}C -AA direkt utilisieren und diese nach 12 Stunden nicht mehr in Blut und Plazenta messbar sind. Eine mögliche Erklärung für die Tatsache, dass in der GDM-Gruppe mehr PUFAs im Nabelschnurvenenblut als im Nabelschnurarterienblut aufzufinden waren, könnte sein, dass Neugeborene diabeteskranker Mütter mehr PUFAs benötigen und diese sofort aus

dem venösen Nabelschnurblut in ihren Metabolismus utilisieren, sodass signifikant niedrigere Anteile im zurückfließenden Nabelschnurarterienblut vorzufinden sind. Weitere Untersuchungen hierzu müssen Aufschluss darüber geben, inwieweit dieses Wissen zu interpretieren ist und ob sich hieraus Konsequenzen für die Schwangerschaft von Diabetikerinnen ergeben.

6 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. Christoph Klein, Direktor der Kinderklinik und Poliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der Ludwig-Maximilians-Universität München für die Überlassung des Themas in seiner Klinik.

Meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Berthold Viktor Koletzko, Leiter der Abteilung für Stoffwechselstörungen und Ernährungsmedizin des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der Ludwig-Maximilians-Universität München möchte ich besonders herzlich danken, sowohl für die Überlassung des Themas, als auch dafür, dass er mir die Durchführung der Arbeit in seiner Arbeitsgruppe ermöglicht und die Arbeit betreut hat.

Herrn Prof. Dr. Reincke und Herrn Prof. Dr. Dr. Heesemann möchte ich für die Organisation und Aufnahme in das Förderprogramm für Forschung und Lehre (FöFoLe) der LMU danken.

Mein großer Dank gilt auch Dr. med. Fabienne Lara Faber, Fachärztin für Pädiatrie des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der Ludwig-Maximilians-Universität München, für die stete Hilfsbereitschaft und Zuverlässigkeit, die sie mir bei der Mitbetreuung der Arbeit entgegen brachte.

Sehr bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des Labors für Stoffwechsel und Ernährungsmedizin des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der Ludwig-Maximilians-Universität München, Dr. rer. nat. Hans Demmelmair und dem gesamten Team für die herzliche Aufnahme in das Team, die hervorragende technische Einarbeitung und die konstante Begleitung bei der Durchführung der Experimente.

Außerdem möchte ich ein großes Dankeschön aussprechen für die Unterstützung, die ich von Frau PD Dr. med. Susanne Krauss-Etschmann, Dr. rer. nat. Manish Aneja und ihrem gesamten Team im KUBUS-Forschungszentrum des Dr. von Haunerschen Kinderspitals der Ludwig-Maximilians-Universität München bekommen habe.

Des Weiteren gilt auch mein großer Dank meinen Kooperationspartnern auf Seiten der Gynäkologen der Frauenklinik Maistraße der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Durch Frau Prof. Dr. med. Barbara Schiessls und Frau Dr. med. Julia Knabls unermüdlichen Einsatz schafften wir es, genügend Probandinnen für diese Studie zu rekrutieren.

Auch möchte ich mich herzlich bedanken für die Kooperation mit Herrn Dr. med. Claudius Faber, der im Pathologischen Instituts der LMU München die immunhistochemischen Färbungen der Plazentapräparate durchführte und mit Eifer und Tatkraft diesen Teil der Arbeit unterstützte.

Schließlich gilt mein großer Dank für die Durchsicht meiner Arbeit und die vielen wertvollen Hinweise, die zu ihrer Vollendung notwendig waren, sowie für persönliche Unterstützung Dominique Tomlinson, Nadine Mavi und meiner Familie.

7 Verzeichnisse

7.1 Verzeichnis der Abkürzungen und Akronyme

Kurzform	Bedeutung
AA	Arachidonsäure
CE	Cholesterinester
COX	Cyclooxygenase
CYP	Cytochrom P 450
DGLA	Dihomogammalinolensäure
DHA	Docosahexaensäure
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Desoxyribonukleosidtriphosphate
EL	Epitheliale Lipoproteinlipase
fwd	<i>forward</i>
GDM	Gestationsdiabetes
HDL	High-Density-Lipoprotein
hEL	Humane endotheliale Lipase
hLPL	Humane Lipoproteinlipase
ICT	Intensivierte konventionelle Insulintherapie
IDL	Intermediate-Lipoprotein
IUGR	Intrauterine Wachstumsretardierung
KG	Körpergewicht
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LOX	Lipoxygenase
NEFA	Nicht veresterte freie Fettsäuren
NaCl	Natriumchlorid
OA	Ölsäure
oGTT	Orales Glukosetoleranztest
PL	Phospholipide
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Real-Time Polymerase-Kettenreaktion

rvs

SC

SSW

TG

V.a.

reverse

Sectio caesarea

Schwangerschaftswochen

Triglyzeride

Verdacht auf

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2: Mütterlicher Metabolismus im ersten Trimester der Schwangerschaft.....	11
Abbildung 3: Abbildung aus Hanebutt et al. (2008). Theoretisches Modell des Fettsäuretransports über die Plazenta.....	13
Abbildung 4: Kategorisierung der Antikörper.....	39
Abbildung 6: Expression von FATP-4 in der Plazenta	44
Abbildung 7: Expression von FATP-6 in der Plazenta.....	45
Abbildung 8: Expression von FABPpm in der Plazenta.....	46
Abbildung 9: Expression von FAT/CD36 in der Plazenta.....	47
Abbildung 10: Expression von aFABP in der Plazenta.....	48
Abbildung 11: Expression von FADS-1 in der Plazenta	49
Abbildung 12: Expression von FADS-2 in der Plazenta	49
Abbildung 13: Expression von hLPL in der Plazenta.....	50
Abbildung 14: Expression von hEL in der Plazenta.....	51
Abbildung 15: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Ölsäure in Phospholipiden.	76
Abbildung 16: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Ölsäure in Phospholipiden.....	77
Abbildung 17: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Arachidonsäure in Phospholipiden.	78
Abbildung 18: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Arachidonsäure in Phospholipiden.	79
Abbildung 19: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Docosahexaensäure in Phospholipiden.	79
Abbildung 20: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Docosahexaensäure in Phospholipiden.	80
Abbildung 21: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Ölsäure in Triglyzeriden.....	81
Abbildung 22: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Ölsäure in Triglyzeriden.	82
Abbildung 23: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Arachidonsäure in Triglyzeriden....	83
Abbildung 24: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Arachidonsäure in Triglyzeriden. ..	84
Abbildung 25: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Docosahexaensäure in Triglyzeriden.	85
Abbildung 26: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Docosahexaensäure in Triglyzeriden.	85
Abbildung 27: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Ölsäure in Cholesterinestern.	86
Abbildung 28: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Ölsäure in Cholesterinestern.....	87
Abbildung 29: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Arachidonsäure in Cholesterinestern.	88
Abbildung 30: Darstellung der Konzentration von ¹³ C-Docosahexaensäure in Cholesterinestern.	89

Abbildung 31: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in Cholesterinestern.	89
Abbildung 32: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in freien Fettsäuren.	90
Abbildung 33: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Ölsäure in freien Fettsäuren.	91
Abbildung 34: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Arachidonsäure in freien Fettsäuren.	92
Abbildung 35: Darstellung der Konzentration von ^{13}C -Docosahexaensäure in freien Fettsäuren.	93
Abbildung 36: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen von venösem Nabelschnurblut und mütterlichem Blutplasma in GDM- und Kontrollgruppe.	94
Abbildung 37: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen von venösem Nabelschnurblut und mütterlichem Blutplasma in der Kontrollgruppe.	95
Abbildung 38: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen von venösem Nabelschnurblut und mütterlichem Blutplasma in der GDM-Gruppe.	96
Abbildung 39: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen in Plazentagewebe und mütterlichem Blutplasma in GDM- und Kontrollgruppe.	97
Abbildung 40: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen von Plazentagewebe und mütterlichem Blutplasma in der Kontrollgruppe.	98
Abbildung 41: Quotienten der totalen ^{13}C -Fettsäure-Konzentrationen von Plazentagewebe und mütterlichem Blutplasma in der GDM-Gruppe.	99
Abbildung 42: Schematische Darstellung eines Synzytiotrophoblasten (oben) und einer Kapillare (unten) in der Plazenta. Die Zeichen + und - zeigen an, wie stark FATP-1 und FATP-4 in den verschiedenen Zellkompartimenten vorhanden sind.	100
Abbildung 43: Repräsentative Abbildung der Immunhistochemie gegen FATP-1 im Zytoplasma des Synzytiotrophoblasten (oben) und im fetalen Kapillarendothel (unten).	101
Abbildung 44: Repräsentative Abbildung der Immunhistochemie gegen FATP-4 im Zytoplasma des Synzytiotrophoblasten (oben) und im fetalen Kapillarendothel (unten).	101

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Kriterien zur Diagnose eines manifesten DM in der Schwangerschaft.	4
Tabelle 2: Grenzwerte im venösen Plasma zur Diagnose eines Gestationsdiabetes.....	5
Tabelle 3: Empfohlener Kalorienbedarf pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag für Schwangere.	7
Tabelle 4: Charakterisierung der einzelnen FATPs.....	16
Tabelle 5: Konzentration der aufgenommenen Fettsäuren	23
Tabelle 6: Bestandteile des internen Standards	28
Tabelle 7: Bestandteile des Reverse-Transkriptase-Eluats	35
Tabelle 8: Bestandteile des PCR-Ansatzes.....	36
Tabelle 9: Oligonukleotidprimer-Sequenzen aller verwendeten Primer	37
Tabelle 10: Demographische Daten der Probandinnen.	40
Tabelle 11: Stoffwechselsituation der Schwangeren zum Zeitpunkt 12 Stunden vor der Geburt.	41
Tabelle 12: Expressionsverhalten der gemessenen mRNAs.	42
Tabelle 13: Fettsäure-Zusammensetzung der Kontrollgruppe	53
Tabelle 14: Fettsäure-Zusammensetzung der Fallgruppe.....	56
Tabelle 18: Arachidonsäure-Anteile (links) und DHA-Anteile (rechts).....	58
Tabelle 19: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Phospholipidfraktion von mütterlichem Blut.....	59
Tabelle 20: Fettsäurezusammensetzung in der Phospholipidfraktion von venösem Nabelschnurblut	60
Tabelle 21: Fettsäurezusammensetzung in der Phospholipidfraktion von arteriellem Nabelschnurblut	60
Tabelle 22: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Triglyzeridfraktion	61
Tabelle 23: Fettsäurezusammensetzung in der Triglyzeridfraktion von venösem Nabelschnurblut	62
Tabelle 24: Fettsäurezusammensetzung in der Triglyzeridfraktion von arteriellem Nabelschnurblut	62
Tabelle 25: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Cholesterinesterfraktion von mütterlichem Blut.....	63
Tabelle 26: Fettsäurezusammensetzung in der Cholesterinesterfraktion von venösem Nabelschnurblut	64
Tabelle 27: Fettsäurezusammensetzung in der Cholesterinesterfraktion von arteriellem Nabelschnurblut	64
Tabelle 28: Fettsäurezusammensetzung 12 Stunden vor der Geburt in der Fraktion der freien Fettsäuren von mütterlichem Blut.....	65

Tabelle 29: Fettsäurezusammensetzung in der Fraktion der freien Fettsäuren von venösem Nabelschnurblut	66
Tabelle 30: Fettsäurezusammensetzung in der Fraktion der freien Fettsäuren von arteriellem Nabelschnurblut	66
Tabelle 31: Die Mittelwerte absoluter FS-Konzentrationen im mütterlichen Blutplasma vor Tracergabe der Fall- und Kontrollgruppe.	67
Tabelle 32: Die Mittelwerte absoluter FS-Konzentrationen im venösen und arteriellen Nabelschnurblut (NeoVene und NeoArterie) der Fall- und Kontrollgruppe.....	68
Tabelle 33: Die Mittelwerte absoluter FS-Konzentrationen in der Plazenta von Fall- und Kontrollgruppe	69
Tabelle 34: Fettsäurezusammensetzung in der Phospholipidfraktion von Plazentagewebe	69
Tabelle 35: Fettsäurezusammensetzung in der Triglyzeridfraktion von Plazentagewebe	70
Tabelle 36: Fettsäurezusammensetzung in der Cholesterinesterfraktion von Plazentagewebe	71
Tabelle 37: Fettsäurezusammensetzung in der Fraktion freier Fettsäuren von Plazentagewebe	71
Tabelle 38: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylcholinfraktion in Erythrozyten aus mütterlichem Blut	72
Tabelle 39: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus mütterlichem Blut	72
Tabelle 40: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylcholinfraktion in Erythrozyten aus venösem Nabelschnurblut.....	73
Tabelle 41: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus venösem Nabelschnurblut	74
Tabelle 42: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylcholinfraktion in Erythrozyten aus arteriellem Nabelschnurblut.....	74
Tabelle 43: Fettsäurezusammensetzung der Phosphatidylethanolaminfraktion in Erythrozyten aus arteriellem Nabelschnurblut.....	75

7.3 Literaturverzeichnis

1. Larque, E., H. Demmelmair, and B. Koletzko, *Perinatal supply and metabolism of long-chain polyunsaturated fatty acids: importance for the early development of the nervous system*. Ann N Y Acad Sci, 2002. **967**: p. 299-310.
2. Llanos, A., et al., *Infants with intrauterine growth restriction have impaired formation of docosahexaenoic acid in early neonatal life: a stable isotope study*. Pediatr Res, 2005. **58**(4): p. 735-40.
3. Szitanyi, P., et al., *Metabolism of ¹³C-labeled linoleic acid in newborn infants during the first week of life*. Pediatr Res, 1999. **45**(5 Pt 1): p. 669-73.
4. Hibbeln, J.R., et al., *Maternal seafood consumption in pregnancy and neurodevelopmental outcomes in childhood (ALSPAC study): an observational cohort study*. Lancet, 2007. **369**(9561): p. 578-85.
5. Oken, E., et al., *Associations of maternal fish intake during pregnancy and breastfeeding duration with attainment of developmental milestones in early childhood: a study from the Danish National Birth Cohort*. Am J Clin Nutr, 2008. **88**(3): p. 789-96.
6. Cohen, J.T., et al., *A quantitative analysis of prenatal intake of n-3 polyunsaturated fatty acids and cognitive development*. Am J Prev Med, 2005. **29**(4): p. 366-74.
7. Bitsanis, D., et al., *Gestational diabetes mellitus enhances arachidonic and docosahexaenoic acids in placental phospholipids*. Lipids, 2006. **41**(4): p. 341-6.
8. Wijendran, V., et al., *Fetal erythrocyte phospholipid polyunsaturated fatty acids are altered in pregnancy complicated with gestational diabetes mellitus*. Lipids, 2000. **35**(8): p. 927-31.
9. Hanebutt, F.L., et al., *Long-chain polyunsaturated fatty acid (LC-PUFA) transfer across the placenta*. Clin Nutr, 2008. **27**(5): p. 685-93.
10. Leopold, E., *Aretaeus the Cappadocian: His Contribution to Diabetes Mellitus*. Annals of Medical History, 1930. **2**: p. 424-435.
11. Banting, F.G., et al., *Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus: preliminary report. 1922*. CMAJ, 1991. **145**(10): p. 1281-6.
12. Shampo, M.A. and R.A. Kyle, *Frederick banting--Nobel laureate for discovery of insulin*. Mayo Clin Proc, 2005. **80**(5): p. 576.
13. Renz-Polster, H., S. Krautzig, and J. Braun, *Basislehrbuch Innere Medizin*. Vol. 4. 2011: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH.
14. Herold, G., *Innere Medizin*. 2010. p. 250-270.
15. Wild, S., et al., *Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030*. Diabetes Care, 2004. **27**(5): p. 1047-53.
16. Jahbbour, S., *Type 1 diabetes in adults : principles and practice*, in *Type 1 diabetes in adults : principles and practice*. 2008, Informa Healthcare: New York. p. 27.
17. *Proceedings of the 4th International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. Chicago, Illinois, USA. 14-16 March 1997*. Diabetes Care, 1998. **21 Suppl 2**: p. B1-167.
18. Weinert, L.S., *International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy: comment to the International Association of*

- Diabetes and Pregnancy Study Groups Consensus Panel*. Diabetes Care, 2010. **33**(7): p. e97; author reply e98.
19. Kleinwechter, H.S.-G., U.; Bühner, C.; Hoesli, I. et al., *Gestationsdiabetes mellitus (GDM)*. Evidenzbasierte Leitlinie zu Diagnostik, Therapie und Nachsorge der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG) und der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe (DGGG), 2011: p. 1-91.
 20. Hollingsworth, D.R., *Maternal metabolism in normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus*. Clin Obstet Gynecol, 1985. **28**(3): p. 457-72.
 21. Statistics, N.C.f.H. *Health, United States, 2009. With Special Feature on Medical Technology*. 2009 [cited 2011 05.12.2011].
 22. Kim, C., K.M. Newton, and R.H. Knopp, *Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review*. Diabetes Care, 2002. **25**(10): p. 1862-8.
 23. Xiang, A.H., et al., *Detailed physiological characterization of the development of type 2 diabetes in Hispanic women with prior gestational diabetes mellitus*. Diabetes, 2010. **59**(10): p. 2625-30.
 24. Sheffield, J.S., et al., *Maternal diabetes mellitus and infant malformations*. Obstet Gynecol, 2002. **100**(5 Pt 1): p. 925-30.
 25. Dodd, J.M., et al., *Screening for gestational diabetes: the effect of varying blood glucose definitions in the prediction of adverse maternal and infant health outcomes*. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 2007. **47**(4): p. 307-12.
 26. Metzger, B.E., et al., *Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes*. N Engl J Med, 2008. **358**(19): p. 1991-2002.
 27. Hong, J.M., C.; Reinsch, S., *Borderline gestational diabetes mellitus and pregnancy outcomes*. BMC Pregnancy and Childbirth, 2008. **8**: p. 31-37.
 28. Albareda, M., et al., *Diabetes and abnormal glucose tolerance in women with previous gestational diabetes*. Diabetes Care, 2003. **26**(4): p. 1199-205.
 29. Moses, R.G., *The recurrence rate of gestational diabetes in subsequent pregnancies*. Diabetes Care, 1996. **19**(12): p. 1348-50.
 30. Major, C.A., et al., *Recurrence of gestational diabetes: who is at risk?* Am J Obstet Gynecol, 1998. **179**(4): p. 1038-42.
 31. MacNeill, S., et al., *Rates and risk factors for recurrence of gestational diabetes*. Diabetes Care, 2001. **24**(4): p. 659-62.
 32. Pettitt, D.J., et al., *Gestational diabetes: infant and maternal complications of pregnancy in relation to third-trimester glucose tolerance in the Pima Indians*. Diabetes Care, 1980. **3**(3): p. 458-64.
 33. Sermer, M., et al., *Impact of increasing carbohydrate intolerance on maternal-fetal outcomes in 3637 women without gestational diabetes. The Toronto Tri-Hospital Gestational Diabetes Project*. Am J Obstet Gynecol, 1995. **173**(1): p. 146-56.
 34. Hillier, T.A., et al., *Childhood obesity and metabolic imprinting: the ongoing effects of maternal hyperglycemia*. Diabetes Care, 2007. **30**(9): p. 2287-92.
 35. Ferrara, A., et al., *Pregnancy plasma glucose levels exceeding the American Diabetes Association thresholds, but below the National Diabetes Data Group thresholds for gestational diabetes mellitus, are related to the risk of neonatal macrosomia, hypoglycaemia and hyperbilirubinaemia*. Diabetologia, 2007. **50**(2): p. 298-306.
 36. Kiechle, M., *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Vol. 2. 2010.

37. Crowther, C.A., et al., *Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes*. N Engl J Med, 2005. **352**(24): p. 2477-86.
38. Landon, M.B., et al., *A multicenter, randomized trial of treatment for mild gestational diabetes*. N Engl J Med, 2009. **361**(14): p. 1339-48.
39. Franz, M.J., et al., *Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications*. Diabetes Care, 2003. **26 Suppl 1**: p. S51-61.
40. Wolff, S., et al., *A randomized trial of the effects of dietary counseling on gestational weight gain and glucose metabolism in obese pregnant women*. Int J Obes (Lond), 2008. **32**(3): p. 495-501.
41. Jovanovic, L., *Role of diet and insulin treatment of diabetes in pregnancy*. Clin Obstet Gynecol, 2000. **43**(1): p. 46-55.
42. Metzger, B.E. and D.R. Coustan, *Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee*. Diabetes Care, 1998. **21 Suppl 2**: p. B161-7.
43. Rassow, J., et al., *Duale Reihe: Biochemie*. Vol. 2. 2008, Stuttgart: Thieme.
44. Burdge, G.C. and P.C. Calder, *Conversion of alpha-linolenic acid to longer-chain polyunsaturated fatty acids in human adults*. Reprod Nutr Dev, 2005. **45**(5): p. 581-97.
45. Connor, W.E., M. Neuringer, and S. Reisbick, *Essential fatty acids: the importance of n-3 fatty acids in the retina and brain*. Nutr Rev, 1992. **50**(4 (Pt 2)): p. 21-9.
46. Koletzko, B., et al., *Long chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development*. Acta Paediatr, 2001. **90**(4): p. 460-4.
47. Friedman, Z., et al., *Cord blood fatty acid composition in infants and in their mothers during the third trimester*. J Pediatr, 1978. **92**(3): p. 461-6.
48. Boyce, J.A., *Eicosanoids in asthma, allergic inflammation, and host defense*. Curr Mol Med, 2008. **8**(5): p. 335-49.
49. Imig, J.D., *Eicosanoid regulation of the renal vasculature*. Am J Physiol Renal Physiol, 2000. **279**(6): p. F965-81.
50. Roman, R.J., *P-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function*. Physiol Rev, 2002. **82**(1): p. 131-85.
51. Imig, J.D. and B.D. Hammock, *Soluble epoxide hydrolase as a therapeutic target for cardiovascular diseases*. Nat Rev Drug Discov, 2009. **8**(10): p. 794-805.
52. Hao, C.M. and M.D. Breyer, *Roles of lipid mediators in kidney injury*. Semin Nephrol, 2007. **27**(3): p. 338-51.
53. Dobrian, A.D., et al., *Functional and pathological roles of the 12- and 15-lipoxygenases*. Prog Lipid Res, 2011. **50**(1): p. 115-31.
54. Persaud, S.J., et al., *Glucose-induced regulation of COX-2 expression in human islets of Langerhans*. Diabetes, 2004. **53 Suppl 1**: p. S190-2.
55. Shanmugam, N., et al., *Increased expression of cyclooxygenase-2 in human pancreatic islets treated with high glucose or ligands of the advanced glycation endproduct-specific receptor (AGER), and in islets from diabetic mice*. Diabetologia, 2006. **49**(1): p. 100-7.
56. Luo, P. and M.H. Wang, *Eicosanoids, beta-cell function, and diabetes*. Prostaglandins Other Lipid Mediat, 2011. **95**(1-4): p. 1-10.
57. Cetin, I., et al., *Fetal nutrition: a review*. Acta Paediatr Suppl, 2005. **94**(449): p. 7-13.

58. Prentice, A.M. and G.R. Goldberg, *Energy adaptations in human pregnancy: limits and long-term consequences*. Am J Clin Nutr, 2000. **71**(5 Suppl): p. 1226S-32S.
59. Herrera, E., *Implications of dietary fatty acids during pregnancy on placental, fetal and postnatal development--a review*. Placenta, 2002. **23 Suppl A**: p. S9-19.
60. Cetin, I., G. Alvino, and M. Cardellicchio, *Long Chain Fatty Acids and Dietary Fats in Fetal Nutrition*. J Physiol, 2009.
61. Agostoni, C., *Role of long-chain polyunsaturated fatty acids in the first year of life*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2008. **47 Suppl 2**: p. S41-4.
62. Martinez, M., *Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development*. J Pediatr, 1992. **120**(4 Pt 2): p. S129-38.
63. Cunningham, P. and L. McDermott, *Long chain PUFA transport in human term placenta*. J Nutr, 2009. **139**(4): p. 636-9.
64. Chambaz, J., et al., *Essential fatty acids interconversion in the human fetal liver*. Biol Neonate, 1985. **47**(3): p. 136-40.
65. Koletzko, B., et al., *The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: review of current knowledge and consensus recommendations*. J Perinat Med, 2008. **36**(1): p. 5-14.
66. Smith, W., in *Dictionary of Greek and Roman Biography and Mythology*. 1849.
67. Banting, F.G., et al., *Pancreatic Extracts in the Treatment of Diabetes Mellitus: Preliminary Report*. Can Med Assoc J, 1962. **87**(20): p. 1062-7.
68. Gauster, M., et al., *Dysregulation of placental endothelial lipase and lipoprotein lipase in intrauterine growth-restricted pregnancies*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(6): p. 2256-63.
69. Dutta-Roy, A.K., *Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta*. Am J Clin Nutr, 2000. **71**(1 Suppl): p. 315S-22S.
70. Campbell, F.M., et al., *Detection and cellular localization of plasma membrane-associated and cytoplasmic fatty acid-binding proteins in human placenta*. Placenta, 1998. **19**(5-6): p. 409-15.
71. Campbell, F.M., M.J. Gordon, and A.K. Dutta-Roy, *Placental membrane fatty acid-binding protein preferentially binds arachidonic and docosahexaenoic acids*. Life Sci, 1998. **63**(4): p. 235-40.
72. Larque, E., et al., *Docosahexaenoic acid supply in pregnancy affects placental expression of fatty acid transport proteins*. Am J Clin Nutr, 2006. **84**(4): p. 853-61.
73. Crawford, M.A., A.G. Hassam, and G. Williams, *Essential fatty acids and fetal brain growth*. Lancet, 1976. **1**(7957): p. 452-3.
74. Berghaus, T.M., H. Demmelmair, and B. Koletzko, *Fatty acid composition of lipid classes in maternal and cord plasma at birth*. Eur J Pediatr, 1998. **157**(9): p. 763-8.
75. Ruyle, M., et al., *Placental transfer of essential fatty acids in humans: venous-arterial difference for docosahexaenoic acid in fetal umbilical erythrocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. **87**(20): p. 7902-6.
76. Larque, E., et al., *In vivo investigation of the placental transfer of (13)C-labeled fatty acids in humans*. J Lipid Res, 2003. **44**(1): p. 49-55.
77. Schaffer, J.E. and H.F. Lodish, *Expression cloning and characterization of a novel adipocyte long chain fatty acid transport protein*. Cell, 1994. **79**(3): p. 427-36.

78. Binnert, C., et al., *Fatty acid transport protein-1 mRNA expression in skeletal muscle and in adipose tissue in humans*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000. **279**(5): p. E1072-9.
79. Stahl, A., *A current review of fatty acid transport proteins (SLC27)*. Pflugers Arch, 2004. **447**(5): p. 722-7.
80. Lobo, S., et al., *Fatty acid metabolism in adipocytes: functional analysis of fatty acid transport proteins 1 and 4*. J Lipid Res, 2007. **48**(3): p. 609-20.
81. Stahl, A., et al., *Insulin causes fatty acid transport protein translocation and enhanced fatty acid uptake in adipocytes*. Dev Cell, 2002. **2**(4): p. 477-88.
82. Wu, Q., et al., *FATP1 is an insulin-sensitive fatty acid transporter involved in diet-induced obesity*. Mol Cell Biol, 2006. **26**(9): p. 3455-67.
83. Meirhaeghe, A., et al., *Intronic polymorphism in the fatty acid transport protein 1 gene is associated with increased plasma triglyceride levels in a French population*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000. **20**(5): p. 1330-4.
84. Mihalik, S.J., et al., *Participation of two members of the very long-chain acyl-CoA synthetase family in bile acid synthesis and recycling*. J Biol Chem, 2002. **277**(27): p. 24771-9.
85. Heinzer, A.K., et al., *A very long-chain acyl-CoA synthetase-deficient mouse and its relevance to X-linked adrenoleukodystrophy*. Hum Mol Genet, 2003. **12**(10): p. 1145-54.
86. Doege, H. and A. Stahl, *Protein-mediated fatty acid uptake: novel insights from in vivo models*. Physiology (Bethesda), 2006. **21**: p. 259-68.
87. Pei, Z., et al., *Mouse very long-chain Acyl-CoA synthetase 3/fatty acid transport protein 3 catalyzes fatty acid activation but not fatty acid transport in MA-10 cells*. J Biol Chem, 2004. **279**(52): p. 54454-62.
88. Wu, Q., et al., *Fatty acid transport protein 1 is required for nonshivering thermogenesis in brown adipose tissue*. Diabetes, 2006. **55**(12): p. 3229-37.
89. Gimeno, R.E., *Fatty acid transport proteins*. Curr Opin Lipidol, 2007. **18**(3): p. 271-6.
90. Gimeno, R.E., et al., *Targeted deletion of fatty acid transport protein-4 results in early embryonic lethality*. J Biol Chem, 2003. **278**(49): p. 49512-6.
91. Gertow, K., et al., *Genetic and structural evaluation of fatty acid transport protein-4 in relation to markers of the insulin resistance syndrome*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(1): p. 392-9.
92. Doege, H., et al., *Targeted deletion of FATP5 reveals multiple functions in liver metabolism: alterations in hepatic lipid homeostasis*. Gastroenterology, 2006. **130**(4): p. 1245-58.
93. Hubbard, B., et al., *Mice deleted for fatty acid transport protein 5 have defective bile acid conjugation and are protected from obesity*. Gastroenterology, 2006. **130**(4): p. 1259-69.
94. Gimeno, R.E., et al., *Characterization of a heart-specific fatty acid transport protein*. J Biol Chem, 2003. **278**(18): p. 16039-44.
95. Schmuth, M., et al., *Differential expression of fatty acid transport proteins in epidermis and skin appendages*. J Invest Dermatol, 2005. **125**(6): p. 1174-81.
96. Stump, D.D., S.L. Zhou, and P.D. Berk, *Comparison of plasma membrane FABP and mitochondrial isoform of aspartate aminotransferase from rat liver*. Am J Physiol, 1993. **265**(5 Pt 1): p. G894-902.
97. Campbell, F.M., M.J. Gordon, and A.K. Dutta-Roy, *Plasma membrane fatty acid-binding protein (FABPpm) of the sheep placenta*. Biochim Biophys Acta, 1994. **1214**(2): p. 187-92.

98. Campbell, F.M., et al., *Plasma membrane fatty-acid-binding protein in human placenta: identification and characterization*. Biochem Biophys Res Commun, 1995. **209**(3): p. 1011-7.
99. Abumrad, N.A., et al., *Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation. Homology with human CD36*. J Biol Chem, 1993. **268**(24): p. 17665-8.
100. Duttaroy, A.K., *Transport of fatty acids across the human placenta: a review*. Prog Lipid Res, 2009. **48**(1): p. 52-61.
101. Schmitz, G. and J. Ecker, *The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids*. Prog Lipid Res, 2008. **47**(2): p. 147-55.
102. Thorburn, G.D., *The placenta, prostaglandins and parturition: a review*. Reprod Fertil Dev, 1991. **3**(3): p. 277-94.
103. Challis, J.R., *Molecular aspects of preterm labor*. Bull Mem Acad R Med Belg, 1998. **153**(5-6): p. 263-70; discussion 270-3.
104. Helliwell, R.J., et al., *Nuclear prostaglandin receptors: role in pregnancy and parturition?* Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2004. **70**(2): p. 149-65.
105. Shi, H., et al., *Adipocyte fatty acid-binding protein: an important gene related to lipid metabolism in chicken adipocytes*. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2010. **157**(4): p. 357-63.
106. Rodriguez, A., et al., *Delta6- and delta5-desaturase activities in the human fetal liver: kinetic aspects*. J Lipid Res, 1998. **39**(9): p. 1825-32.
107. Salem, N., Jr., et al., *Arachidonic and docosahexaenoic acids are biosynthesized from their 18-carbon precursors in human infants*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996. **93**(1): p. 49-54.
108. Schaeffer, L., et al., *Common genetic variants of the FADS1 FADS2 gene cluster and their reconstructed haplotypes are associated with the fatty acid composition in phospholipids*. Hum Mol Genet, 2006. **15**(11): p. 1745-56.
109. Koletzko, B., et al., *Genetic variants of the fatty acid desaturase gene cluster predict amounts of red blood cell docosahexaenoic and other polyunsaturated fatty acids in pregnant women: findings from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children*. Am J Clin Nutr, 2011. **93**(1): p. 211-9.
110. Burdge, G.C. and S.A. Wootton, *Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women*. Br J Nutr, 2002. **88**(4): p. 411-20.
111. Giltay, E.J., et al., *Docosahexaenoic acid concentrations are higher in women than in men because of estrogenic effects*. Am J Clin Nutr, 2004. **80**(5): p. 1167-74.
112. Tabano, S., et al., *Placental LPL gene expression is increased in severe intrauterine growth-restricted pregnancies*. Pediatr Res, 2006. **59**(2): p. 250-3.
113. Goldberg, I.J. and M. Merkel, *Lipoprotein lipase: physiology, biochemistry, and molecular biology*. Front Biosci, 2001. **6**: p. D388-405.
114. Nicoll, A. and B. Lewis, *Evaluation of the roles of lipoprotein lipase and hepatic lipase in lipoprotein metabolism: in vivo and in vitro studies in man*. Eur J Clin Invest, 1980. **10**(6): p. 487-95.
115. McCoy, M.G., et al., *Characterization of the lipolytic activity of endothelial lipase*. J Lipid Res, 2002. **43**(6): p. 921-9.

116. Santamarina-Fojo, S., C. Haudenschild, and M. Amar, *The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism and atherosclerosis*. Curr Opin Lipidol, 1998. **9**(3): p. 211-9.
117. Gauster, M., et al., *Endothelial lipase releases saturated and unsaturated fatty acids of high density lipoprotein phosphatidylcholine*. J Lipid Res, 2005. **46**(7): p. 1517-25.
118. Wijendran, V., et al., *Maternal plasma phospholipid polyunsaturated fatty acids in pregnancy with and without gestational diabetes mellitus: relations with maternal factors*. Am J Clin Nutr, 1999. **70**(1): p. 53-61.
119. Thomas, B., et al., *Plasma AA and DHA levels are not compromised in newly diagnosed gestational diabetic women*. Eur J Clin Nutr, 2004. **58**(11): p. 1492-7.
120. Rizzo, T., et al., *Correlations between antepartum maternal metabolism and child intelligence*. N Engl J Med, 1991. **325**(13): p. 911-6.
121. Ornoy, A., et al., *School-age children born to diabetic mothers and to mothers with gestational diabetes exhibit a high rate of inattention and fine and gross motor impairment*. J Pediatr Endocrinol Metab, 2001. **14 Suppl 1**: p. 681-9.
122. Helland, I.B., et al., *Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age*. Pediatrics, 2003. **111**(1): p. e39-44.
123. Helland, I.B., et al., *Similar effects on infants of n-3 and n-6 fatty acids supplementation to pregnant and lactating women*. Pediatrics, 2001. **108**(5): p. E82.
124. Lando, A.M., S.B. Fein, and C.J. Choiniere, *Awareness of methylmercury in fish and fish consumption among pregnant and postpartum women and women of childbearing age in the United States*. Environ Res, 2012. **116**: p. 85-92.
125. Jones, P.J., P.B. Pencharz, and M.T. Clandinin, *Absorption of ¹³C-labeled stearic, oleic, and linoleic acids in humans: application to breath tests*. J Lab Clin Med, 1985. **105**(6): p. 647-52.
126. Koletzko, B., et al., *The use of stable isotope techniques for nutritional and metabolic research in paediatrics*. Early Hum Dev, 1998. **53 Suppl**: p. S77-97.
127. Demmelmair, H., et al., *New insights into lipid and fatty acid metabolism via stable isotopes*. Eur J Pediatr, 1997. **156 Suppl 1**: p. S70-4.
128. Demmelmair, H., et al., *Estimation of arachidonic acid synthesis in full term neonates using natural variation of ¹³C content*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 1995. **21**(1): p. 31-6.
129. Koletzko, B., T. Decsi, and H. Demmelmair, *Arachidonic acid supply and metabolism in human infants born at full term*. Lipids, 1996. **31**(1): p. 79-83.
130. Brossard, N., et al., *Stable isotope tracer and gas-chromatography combustion isotope ratio mass spectrometry to study the in vivo compartmental metabolism of docosahexaenoic acid*. Anal Biochem, 1994. **220**(1): p. 192-9.
131. Desforges, M. and C.P. Sibley, *Placental nutrient supply and fetal growth*. Int J Dev Biol, 2010. **54**(2-3): p. 377-90.
132. Haggarty, P., et al., *Long-chain polyunsaturated fatty acid transport across the perfused human placenta*. Placenta, 1997. **18**(8): p. 635-42.
133. el Boustani, S., et al., *Direct in vivo characterization of delta 5 desaturase activity in humans by deuterium labeling: effect of insulin*. Metabolism, 1989. **38**(4): p. 315-21.

134. Brenner, R.R., A.M. Bernasconi, and H.A. Garda, *Effect of experimental diabetes on the fatty acid composition, molecular species of phosphatidylcholine and physical properties of hepatic microsomal membranes*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2000. **63**(3): p. 167-76.
135. Tilvis, R.S. and T.A. Miettinen, *Fatty acid compositions of serum lipids, erythrocytes, and platelets in insulin-dependent diabetic women*. J Clin Endocrinol Metab, 1985. **61**(4): p. 741-5.
136. Larque, E., et al., *Placental transfer of fatty acids and fetal implications*. Am J Clin Nutr, 2011. **94**(6 Suppl): p. 1908S-1913S.
137. Lindegaard, M.L., et al., *Endothelial and lipoprotein lipases in human and mouse placenta*. J Lipid Res, 2005. **46**(11): p. 2339-46.
138. Jaye, M., et al., *A novel endothelial-derived lipase that modulates HDL metabolism*. Nat Genet, 1999. **21**(4): p. 424-8.
139. Previato, L., et al., *Transcriptional regulation of the human lipoprotein lipase gene in 3T3-L1 adipocytes*. J Biol Chem, 1991. **266**(28): p. 18958-63.
140. Desoye, G., M. Gauster, and C. Wadsack, *Placental transport in pregnancy pathologies*. Am J Clin Nutr, 2011. **94**(6 Suppl): p. 1896S-1902S.
141. De Caterina, R. and G. Basta, *n-3 Fatty acids and the inflammatory response - A biological background*. European Heart Journal Supplements, 2001. **3**(suppl D): p. D42-D49.
142. Ferrucci, L., et al., *Relationship of plasma polyunsaturated fatty acids to circulating inflammatory markers*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. **91**(2): p. 439-46.
143. Ferrucci, L., et al., *The origins of age-related proinflammatory state*. Blood, 2005. **105**(6): p. 2294-9.
144. Gil-Sanchez, A., et al., *Maternal-fetal in vivo transfer of [13C]docosahexaenoic and other fatty acids across the human placenta 12 h after maternal oral intake*. Am J Clin Nutr, 2010. **92**(1): p. 115-22.
145. Klingler, M., et al., *Analysis of FA contents in individual lipid fractions from human placental tissue*. Lipids, 2003. **38**(5): p. 561-6.
146. Lewis, R.M., M.A. Hanson, and G.C. Burdge, *Umbilical venous-arterial plasma composition differences suggest differential incorporation of fatty acids in NEFA and cholesteryl ester pools*. Br J Nutr, 2011. **106**(4): p. 463-7.